Министерство сельского хозяйства Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего профессионального образования
САРАТОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ имени Н.И.Вавилова

ФИЗИОЛОГИЯ УСТОЙЧИВОСТИ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ

КРАТКИЙ КУРС ЛЕКЦИЙ

Направления подготовки 06.06.01 Биологические науки

Квалификация (степень) выпускника
Исследователь. Преподаватель-исследователь

САРАТОВ 2014

Лекция 1.

ОБЩИЕ ПОНЯТИЯ СТРЕССА И АДАПТАЦИИ.

1.1. Неблагоприятные факторы биотической и абиотической природы.

В естественных для вида природных условиях произрастания или возделывания растения в процессе своего роста и развития часто испытывают воздействие неблагоприятных факторов внешней среды, к которым относят температурные колебания, засуху, избыточное увлажнение, засоленность почвы и т. д. Каждое растение обладает способностью к адаптации в меняющихся условиях внешней среды в пределах, обусловленных его генотипом. Чем выше способность растения изменять метаболизм в соответствии с окружающей средой, тем шире норма реакции данного растения и лучше способность к адаптации. Это свойство отличает устойчивые сорта сельскохозяйственных культур. Как правило, несильные и кратковременные изменения факторов внешней среды не приводят к существенным нарушениям физиологических функций растений, что обусловлено их способностью сохранять относительно стабильное состояние при изменяющихся условиях внешней среды, т. е. поддерживать гомеостаз. Однако резкие и длительные воздействия приводят к нарушению многих функций растения, а часто и к его гибели.

При действии неблагоприятных условий снижение физиологических процессов и функций может достигать критических уровней, не обеспечивающих реализацию генетической программы онтогенеза, нарушаются энергетический обмен, системы регуляции, белковый обмен и другие жизненно важные функции растительного организма. При воздействии на растение неблагоприятных факторов (стрессоров) в нем возникает напряженное состояние, отклонение от нормы — стресс. Стресс — общая неспецифическая адаптационная реакция организма на действие любых неблагоприятных факторов. Выделяют три основные группы факторов, вызывающих стресс у растений (В. В. Полевой, 1989): физические — недостаточная или избыточная влажность, освещенность, температура, радиоактивное излучение, механические воздействия; химические — соли, газы, ксенобиотики (гербициды, инсектициды, фунгициды, промышленные отходы и др.); биологические — поражение возбудителями болезней или вредителями, конкуренция с другими растениями, влияние животных, цветение, созревание плодов.

Сила стресса зависит от скорости развития неблагоприятной для растения ситуации и уровня стрессирующего фактора. При медленном развитии неблагоприятных условий растение лучше приспосабливается к ним, чем при кратковременном, но сильном действии. В первом случае, как правило, в большей степени проявляются специфические механизмы устойчивости, во втором — неспецифические.

Выделяют три группы факторов, вызывающих стресс у растений:

1) физические стрессоры – недостаточная или избыточная влажность, освещенность, температура, радиоактивное излучение, механические воздействия;

2) химические стрессоры – некоторые соли, газы и другие вещества (в том числе разные ксенобиотики – пестициды, промышленные отходы и др.);

3) биологические стрессоры – возбудители болезней, животные-вредители, конкуренты.

Любые стрессоры вызывают у растений общие изменения процессов обмена веществ:

– торможение синтеза гормонов роста и усиление образования ингибиторов;

– заметно подавляются энергетические процессы;

– нарушается функционирование мембран. У высших растений увеличивается их проницаемость, происходит деполяризация плазмалеммы;

– на фоне активации синтеза специальных стрессовых белков происходит общее снижение синтетических процессов;

– наблюдается усиление процессов гидролиза и закисление цитоплазмы.

В невысоких же дозах повторяющиеся стрессы способствуют закаливанию организма.

1.2. Ответные реакции растений на действие стрессоров. Специфические и неспецифические реакции.

В неблагоприятных природных условиях устойчивость и продуктивность растений определяются рядом признаков, свойств и защитно-приспособительных реакций. Различные виды растений обеспечивают устойчивость и выживание в неблагоприятных условиях тремя основными способами: с помощью механизмов, которые позволяют им избежать неблагоприятных воздействий (состояние покоя, эфемеры и др.); посредством специальных структурных приспособлений; благодаря физиологическим свойствам, позволяющим им преодолеть пагубное влияние окружающей среды.

Однолетние сельскохозяйственные растения в умеренных зонах, завершая свой онтогенез в сравнительно благоприятных условиях, зимуют в виде устойчивых семян (состояние покоя).

Многие многолетние растения зимуют в виде подземных запасающих органов (луковиц или корневищ), защищенных от вымерзания слоем почвы и снега. Плодовые деревья и кустарники умеренных зон, защищаясь от зимних холодов, сбрасывают листья.

Защита от неблагоприятных факторов среды у растений обеспечивается структурными приспособлениями, особенностями анатомического строения (кутикула, корка, механические ткани и т. д.), специальными органами защиты (жгучие волоски, колючки), двигательными и физиологическими реакциями, выработкой защитных веществ (смол, фитонцидов, токсинов, защитных белков).

К структурным приспособлениям относятся мелколистность и даже отсутствие листьев, воскообразная кутикула на поверхности листьев, их густое опушение и погруженность устьиц, наличие сочных листьев и стеблей, сохраняющих резервы воды, эректоидность или пониклость листьев и др. Растения располагают различными физиологическими механизмами, позволяющими приспосабливаться к неблагоприятным условиям среды. Это САМ-тип фотосинтеза суккулентных растений, сводящий к минимуму потери воды и крайне важный для выживания растений в пустыне и т. д.

Многочисленными физиологическими изменениями сопровождается развитие холодоустойчивости и морозостойкости у озимых, двулетних и многолетних растений при уменьшении длины дня и снижении температуры в осеннее время. У сельскохозяйственных растений особое значение имеет устойчивость, определяемая выносливостью клеток растений, их способностью адаптироваться в изменяющихся условиях среды, вырабатывать необходимые для жизнедеятельности продукты метаболизма.

Лучше всего растения переносят неблагоприятные условия в состоянии покоя. Первым сигналом для перехода к состоянию покоя является сокращение светового периода. При этом в клетках растений начинаются биохимические изменения, приводящие в конечном счете к накоплению запасных питательных веществ, снижению оводненности клеток и тканей, образованию защитных структур, накоплению ингибиторов роста. Примером такой подготовки могут служить сбрасывание листьев в осенний период у многолетних растений, развитие запасающих органов у двулетних и образование семян у однолетних.

Стрессовые реакции растений

Важным свойством живых объектов является способность поддерживать гомеостаз – сохранять относительное постоянство внутренней среды при действии различных внешних факторов. При действии на растение неблагоприятных факторов (стрессоров) в

нем возникает напряженное состояние, отклонение от нормы. Ответные реакции, индуцируемые в организме любыми внешними воздействиями, часто объединяют словами «адаптационный синдром», а также широко распространенным термином «стресс» (от англ. stress – напряжение). В физиологии стресс – это комплекс неспецифических изменений, возникающих в организме в ответ на действие разных неблагоприятных факторов.

Реакция протопластов на разные неблагоприятные окружающие условия сходна:

1) уменьшается степень дисперсности цитоплазмы,
2) повышается проницаемость мембраны,
3) денатурируют белки,
4) происходят паранекротические изменения в ядре,
5) цитоплазма коагулирует.

Эти изменения возникают при любом повреждении, но после устранения повреждающего агента могут полностью исчезнуть, если повреждение было нерадикальным. Неспецифичность этих признаков выражается в том, что они сопутствуют разным повреждениям и наблюдаются у клеток любых тканей и одноклеточных организмов. Этот комплекс неспецифических физико-химических признаков повреждения был назван паранекротическим, а состояние клеток, при котором развиваются эти изменения, – паранекрозом (вблизи смерти).

В соответствии с созданной канадским физиологом Г. Селье теорией общего адаптационного синдрома (стресса), у растений можно выделить три фазы ответной реакции на действие стрессора:

– первичной стрессовой реакции;
– адаптации;
– истощения ресурсов надежности.

Так, листья проростков фасоли, обдуваемые феном (+38°), через 12-30 мин опускаются из-за завядания (фаза первичной реакции), а затем снова поднимаются (фаза адаптации), несмотря на продолжение обдува сухим воздухом.

В ответных реакциях на повреждающие факторы выделяют элементы неспецифической устойчивости (включающиеся в разных стрессовых ситуациях) и специфические процессы, инициируемые в растении только определенным типом стрессовых воздействий.

На формирование неспецифических элементов устойчивости (синтез белков теплового шока, полиаминов) требуется гораздо меньше времени, чем для прохождения специфических адаптивных реакций (синтез белков-антифризов, переключение фотосинтеза на САМ-путь и др.).

Специфическое реагирование на действие экстремальных факторов контролируется генетическими механизмами посредством работы белоксинтезирующего аппарата. В основе неспецифического реагирования лежит физиологическая пластичность (пластичность мембранных компонентов, изменение структуры и активности клеточных белков и др.).

Неспецифические приспособления являются основными и особенно ярко проявляются на молекулярном и клеточном уровнях. Специфические приспособления происходят на всех уровнях организации, но лучше выражены на более высоких уровнях (ткани, органы, организм).

Соотношение специфических и неспецифических ответных реакций в значительной степени зависит:

– от длительности действия фактора. При кратковременном воздействии высокой дозы неблагоприятного фактора в основном наблюдаются неспецифические ответные реакции. При длительном же действии срабатывает большее число метаболических звеньев, часть которых обладает чертами специфичности для данного организма. Постепенное

нарастание действия стрессора приводит к включению процессов специализированной адаптации.

– от биологических особенностей объекта.

Во всех случаях провести резкую границу между специфическими и неспецифическими реакциями невозможно. В целом для всех организмов характерна способность сочетать в ответ на внешние воздействия реакции неспецифические (в значительной мере не зависящие от природы воздействующего фактора) со специфическими. Именно их сочетание обеспечивает эффективное реагирование живых систем и эволюционное развитие.

1.3. Природа неспецифических реакций.

Впервые понятие о комплексе неспецифических реакций растительной клетки на различные внешние воздействия (кислоты, щелочи, повышенное давление, тяжелые металлы) ввели в 1940 г. Д.Н. Насонов и В.Я. Александров. По их наблюдениям, при этом происходили увеличение вязкости цитоплазмы, повышение кислотности, денатурация белка и т.п. Этот комплекс реакций был назван паранекрозом.

Позднее, когда представление о стрессе было расширено и вышло за рамки изменении гормонального обмена, существование неспецифических реакций у растении не вызывало возражении. Формируется даже отдельная область науки - фитострессология. Интерес к изучению реактивности растений связан с тем, что они находятся в постоянно меняющихся условиях. Кроме того, в агрофитоценозах растения подвергаются влиянию необычных для растении соединений, в частности ксенобиотиков.

При сопоставлении фаз триады у растений и животных наибольшие сомнения возникали в идентичности первой фазы. Судя по доминирующим в ней реакциям, она не могла быть названа фазой тревоги. Ее предлагается именовать первичной индуктивной стрессовой реакцией. Приведенные ниже первичные неспецифические реакции включаются в виде каскада и касаются интегральных процессов: функций мембран, энергетики, роста, соотношения реакций синтеза и распада.

Увеличивается проницаемость мембран в результате изменения молекулярного состава их компонентов. Это приводит к обратимому выходу ионов калия из клетки и входу ионов кальция из клеточной стенки, вакуоли, ЭПР, митохондрий. Происходит деполяризация мембран. Увеличение проницаемости мембран и торможение Н+-АТФазы ведут к зачислению цитоплазмы. Снижение рН цитоплазмы способствует активации гидролаз, большинство которых имеет оптимум рН в кислой среде. В результате усиливаются процессы распада полимеров.

Тормозится синтез белка, изменяется конформация белковых молекул. Происходит дезинтеграция полисом, информационные РНК "дострессовых" белков гидролизуются или взаимодействуют с особыми белками, образуя "стрессовые гранулы" в цитоплазме. Тормозятся процессы транскрипции и репликации. Вместе с тем на этом этапе происходят экспрессия репрессированных генов и синтез ряда стрессовых белков. Активируется сборка элементов цитоскелета, что приводит к увеличению вязкости цитоплазмы. Тормозится интенсивность фотосинтеза вследствие изменений структуры белков и липидов тилакоидных мембран. Вслед за фотосинтезом ингибируется дыхание, происходят сдвиги в его структуре, снижается уровень АТФ, активируются свободнорадикальные процессы.

В этот период преобладающими становятся процессы катаболизма, т.е. накапливаются продукты распада. Их роль многообразна, что особенно проявляется в следующей фазе триады. Во-первых, они могут играть роль корректирующего фактора, поскольку в ходе деструкции обеспечивается устранение полимеров с ошибочной или нарушенной структурой. Во-вторых, мономерные соединения могут служить субстратами для синтеза стрессовых белков, фитогормонов и т.д. В-третьих, мономеры используются в качестве

субстратов дыхания, с чем связывают их энергетическую роль. В-четвертых, такие мономеры, как моно- и олигосахариды, аминокислоты, прежде всего пролин, бетаин, связывают воду, что особенно важно для сохранения внутриклеточной воды при повышении проницаемости мембран и облегчении выхода воды из клетки. Наконец, накапливается все больше информации о том, что продукты деградации белков и липидов обладают свойствами активаторов и ингибиторов процессов метаболизма, оказывая влияние на рост и морфогенез растений. В 1991 г. И.А. Тарчевским выдвинута концепция о сигнальных свойствах олигомерных промежуточных продуктов катаболизма, реализуемых путем воздействия на транскрипцию, трансляцию или на активность ранее образованных молекул ферментов. Эти так называемые стрессовые метаболиты - физиологически активные продукты распада, подобно гормонам животных, оказываются способными выполнять регуляторную функцию в последующей перестройке обмена клеток и организма в целом на новый режим в экстремальных условиях существования.

В первую фазу стресса выявляются сдвиги в гормональном балансе. Несколько возрастает интенсивность синтеза этилена и ингибиторов роста, абсцизовой и жасмоновой кислот. Количество же гормонов, стимулирующих рост и развитие: ауксина, цитокинина, гиббереллинов, значительно уменьшается. Это ведет к торможению деления и роста клеток, а также роста всего растения. Таким образом, на первом этапе триады Селье у растений, в отличие от животных, обнаруживается не активация, а торможение гормонального обмена. В последнее десятилетие в литературе стали появляться данные о содержании в растительных тканях тех же гормонов, которые участвуют в стрессовых реакциях у животных. Обсуждается роль в обмене веществ растений таких известных для животных нейротрансмиттеров, как ацетилхолин, катехоламин, гистамин, серотонин, норадреналин. Их рассматривают в качестве возможных химических медиаторов, регуляторов метаболических процессов при различных неблагоприятных условиях среды. Описаны пути и локализация синтеза этих веществ в растениях. Механизм действия биомедиаторов связывают с возможностью их взаимодействия с обычными фитогормонами растений.

Описанные изменения взаимосвязаны и служат пусковым звеном для включения цепи последующих обменных реакций, назначение которых состоит не только в восстановлении исходного состояния клетки, но и в активации обмена веществ.

Во второй фазе триады Селье - фазе адаптации - у растений на основании изменений, произошедших во время первой фазы, включаются главные механизмы адаптации.

Они характеризуются снижением активности гидролитических и катаболических реакций и усилением процессов синтеза. При этом образовавшиеся в начале воздействия продукты распада способствуют "готовности" обмена к перестройке. Так, накопленный в результате гидролиза белка пролин взаимодействует с поверхностными гидрофильными остатками белков и увеличивает их растворимость, защищая от денатурации. В результате клетка удерживает больше воды, что повышает жизнеспособность растений в условиях засухи, засоления, высокой температуры. Осмофильными свойствами помимо указанных выше растворимых углеводов и их производных обладает синтезируемый при дефиците воды белок осмотин. Продукты деградации гемицеллюлез, пектиновых веществ - олигогликозиды индуцируют синтез фитоалексинов, выполняющих защитную функцию при инфекционном поражении растений. Образующиеся при распаде органических азотистых соединений полиамины способствуют снижению проницаемости мембран, ингибированию протеазной активности, снижению процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ), регуляции pH и т.д. Физиологически активные вещества, способные к регуляции метаболических процессов, имеются и среди продуктов распада липидов.

Следовательно, и во второй фазе включаются защитные реакции, также в значительной степени неспецифичные. Они способствуют более интенсивному синтезу белка и нуклеиновых кислот, за счет образования стрессовых белков - изоферментов усиливается "мощность" ферментных систем. Происходит стабилизация мембран, в результате чего

восстанавливается ионный транспорт. Повышаются активность функционирования митохондрий, хлоропластов и соответственно уровень энергообеспечения. Снижается генерация активных форм кислорода, и тормозится ПОЛ. Возрастает роль компенсаторных шунтовых механизмов, например, усиливается активность пентозофосфатного пути дыхания как поставщика восстановителя и пентоз, необходимых для синтезов (в частности, нуклеиновых кислот).

На уровне целостного организма механизмы адаптации, свойственные клетке, дополняются новыми реакциями. Они основываются на конкурентных отношениях между органами за физиологически активные и питательные вещества и построены по принципу

аттрагирующих (притягивающих) центров. Такой механизм позволяет растению формировать в условиях стресса минимальное количество генеративных органов (аттрагирующих центров), которые могут быть обеспечены необходимыми веществами для созревания. Благодаря переброске питательных веществ из нижних листьев сохраняются жизнеспособными более молодые - верхние.

На популяционном уровне адаптация выражается в сохранении только тех индивидуумов, которые обладают широким диапазоном реакций на экстремальный фактор и, оказавшись генетически более устойчивыми, способны дать потомство. Растения, генетически не приспособленные к стрессору, гибнут, устраняются, что ведет к возрастанию общего уровня устойчивости популяции. Таким образом, на популяционном уровне в стрессовую реакцию включается естественный отбор, в результате которого появляются более приспособленные организмы и новые виды. Предпосылкой к этому механизму адаптации служит внутрипопуляционная вариабельность уровня устойчивости к тем или иным факторам или их комплексу.

В условиях возрастания силы эффекта и постепенного исчерпания возможностей защиты организма также доминируют неспецифические реакции. При действии различных агентов разрушаются клеточные структуры. Наблюдается деструкция ядра, в хлоропластах происходит распад гран, в митохондриях уменьшается количество крист. Появляются дополнительные вакуоли, где "обезвреживаются" токсические вещества, образующиеся в результате изменения обмена в стрессовых условиях. Нарушение ультраструктуры основных энергетических генераторов - митохондрий и хлоропластов приводит к энергетическому истощению клетки, что влечет за собой сдвиги физико-химического состояния цитоплазмы. Эти сдвиги, свидетельствующие о сильных, необратимых повреждениях клетки, означают наступление последнего этапа схемы Селье - фазы истощения.

Некоторые исследователи предлагают дополнить триаду Селье еще одной фазой - четвертой, назвав ее фазой регенерации (реституции), наступление которой возможно после удаления стрессора. По-видимому, данный этап не может быть повторением второй фазы, поскольку к этому времени организм оказывается слишком ослабленным.

Исходная устойчивость определяет в значительной мере степень восприятия организмом той или иной "дозы" неблагоприятного воздействия и скорость включения фаз триады. Устойчивость в онтогенезе может меняться: особенно чувствительны к стрессорам растения в ювенильном возрасте (при прорастании), а также при цветении и плодоношении, а наиболее устойчивы в состоянии покоя.

Необходимо отметить, что обычно стрессоры действуют не по одному, а в комплексе. Так, повышенная температура и интенсивная инсоляция сопровождаются засухой, при затоплении проявляется не только кислородная недостаточность, но и интоксикация ядовитыми соединениями, низкой температуре сопутствуют слабая освещенность и избыток влаги и т.д. Вместе с тем к стрессу нельзя отнести такие обычные ритмические сдвиги метаболизма, как изменение скорости фотосинтеза, дыхания или транспирации при смене режима освещения (солнце-тучи, день-ночь) или других условий. Не относятся к стрессу и метаболические сдвиги во время цветения или плодоношения, а также при

старении, хотя изменения обмена веществ в конце онтогенеза очень напоминают отмечающиеся при стрессе.

Понятно, что в ответ на действие стрессоров возникают и специфические реакции, характерные для конкретного стрессового воздействия. К ним можно отнести увеличение концентрации ионов при засолении, пожелтение листьев (хлороз) при несбалансированном минеральном питании, разрастание корневой шейки при затоплении корней, усиление транспирации при засухе, синтез тех или иных стрессовых белков и т.д. Тем не менее именно неспецифические защитные реакции выступают наиболее "экономным" и универсальным средством сохранения равновесия биосистем с внешней средой, обеспечивая их надежность в быстро меняющихся условиях существования. После того как первичная, кратковременная адаптация достигнута и природа стрессора для организма ясна, запускаются механизмы основной фазы адаптации, в которой наряду с большой долей неспецифических реакций обнаруживаются и специфические ответы.

1.4. Стрессовые белки и их функции.

В формирование механизмов устойчивости растений к водному дефициту вовлечены белки, выполняющие различные функции. Многие из них синтезируются de novo как ответная реакция растения на дегидратацию.

Lea-белки

Часть индуцируемых водным дефицитом белков защищает цитоплазматиче¬ские биополимеры и формируемые ими клеточные структуры от повреждений, вызываемых дегидратацией. К ним относятся Lea (late embryogenesis abundant)-белки, которые сначала были идентифицированы как продукты генов LEA, экспрессирующихся в семенах в фазе их созревания и высушивания. Позже некоторые Lea-белки были обнаружены в вегетативных тканях растений в период потери ими воды при водном, солевом и низкотемпературном стрессах.

Lea-белки в подавляющем большинстве гидрофильны, что согласуется с их цитоплазматической локализацией. Многие из них обогащены аланином и глицином и лишены цистеина и триптофана. Lea-белки в соответствии с их аминокислотными последовательностями и структурой объединяют в пять групп (1 — 5). Существуют предположения о специфических функциях белков каждой группы. Lea-белки группы 1 характеризуются высоким содержанием заряженных аминокислот и глицина, что позволяет им эффективно связывать воду. Наличие Lea-белков этой группы в цитоплазме придает ей высокую водоудерживающую способность.

Образующиеся белки поддерживают метаболизм и физиологические процессы в период потери клеткой воды и последующего восстановления оводненности в ходе осморегуляторного процесса

Предполагается, что Lea-белки группы 2 выполняют функции шаперонов. Образуя комплексы с другими белками, они предохраняют последние от повреждений в условиях дегидратации клетки. Некоторые Lea-белки (группы 3 и 5) участвуют в связывании ионов, которые концентрируются в цитоплазме при потере клетками воды. Наличие гидрофобной области у этих белков приводит к формированию гомодимера с гидрофобными последовательностями, обращенными друг к другу, тогда как заряженные области на наружных поверхностях белка участвуют в связывании ионов. Lea-белки группы 4 могут замещать воду в примембранной области и этим поддерживать структуру мембран при дегидратации. Lea белки играют важную роль в устойчивости растений к водному дефициту. На ряде видов растений показана корреляция между выживаемостью при водном дефиците и накоплением в их клетках Lea-белков. Например, сверхэкспрессия генов, кодирующих Lea-белки в трансформантах риса (Oryza sativa), коррелировала с высокой устойчивостью растений к водному дефициту.

Шапероны и ингибиторы протеаз.

Шаперонами называют белки, которые связывают полипептиды во время их сворачивания (folding), т.е. при формирования третичной структуры, и сборки белковой молекулы из субъединиц, т. е. при формировании четвертичной структуры. Взаимодействуя с полипептидами, шапероны предотвращают ошибки в сворачивании и сборке и этим препятствуют аггрегации полипептидных цепей. Некоторые шапероны играют роль «ремонтных станций», исправляющих неверное сворачивание. Одна из главных функций шаперонов — сворачивание и разворачивание (unfolding), а также сборка и разборка белков при их транспорте через мембраны. Полипептидная цепь может пройти через пору в мембране лишь в развернутом виде. Некоторые содержащиеся в цитозоле шапероны взаимодействуют с вновь синтезированными полипептидными цепями и поддерживают их линейную структуру, так что полипептидные цепи могут сразу транспортироваться в нужный компартмент клетки. Другие шапероны связываются с аминокислотами полипептидной цепи, как только она покажется на другой стороне мембраны, и осуществляют сворачивание. При дегидратации клеток тенденция к повреждениям и денатурации белков усиливается, поэтому защитная роль шаперонов в этих условиях возрастает. Стрессовые условия активируют биосинтез шаперонов в клетках.

При осмотическом стрессе происходит также индукция биосинтеза инги¬биторов протеаз, препятствующих протеолитическому расщеплению белков, которые при дегидратации клетки сохраняют свою структуру и функциональные свойства.

Протеазы и убиквитины.

При обезвоживании клеток, несмотря на действие протекторных соединений и шаперонов, часть клеточных белков подвергается денатурации. Денатурированные белки должны быть гидролизованы. Эту функцию выполняют протеазы и убиквитины, экспрессия генов которых также индуцируется стрессовыми условиями. Убиквитины представляют собой низкомолекулярные (8,5 кДа) высококонсервативные белки. Присоединяясь к N-концу денатурированного белка, они делают белок доступным для действия протеаз. Таким путем осуществляется селективная деградация денатурированных белков.

Аквапорины.

Трансмембранное движение воды происходит в основном через водные каналы, образованные белками аквапоринами. За счет изменения числа водных каналов в мембране и их проводимости осуществляется быстрая регуляция трансмембранных потоков воды, это особенно важно при водном дефиците. Показано, что поглощение воды клетками в ответ на увеличение внутриклеточных концентраций осмолитов, сопровождающееся восстановлением ОСВ и тургора при засухе, происходит через водные каналы. В A. thaliana водный дефицит индуцировал экспрессию гена RD28, который кодирует аквапорин, локализованный в плазматической мембране. Гены, кодирующие аквапорины, идентифицированы в M. crystallinum. Показано, что количество транскриптов этих генов коррелирует с тургорным давлением в клетках листьев M. crystallinum при действии на растение соли в высоких концентрациях. После обработки растений хлористым натрием число транскриптов в период снижения тургорного давления уменьшалось. В последующем оно увеличивалось по мере того, как в клетках накапливались осмолиты и восстанавливался тургор. Возросшая концентрация транскриптов в клетках активировала трансляцию. Увеличение содержания аквапоринов в мембране и их последующая активация приводили к возрастанию водной проводимости ПМ и, соответственно, к увеличению потока воды в клетку в период восстановления тургора. Во время засухи содержание аквапоринов возрастает не только в ПМ, но и в тонопласте. Это способствует увеличению водной проводимости тонопласта, что также, по-видимому, необходимо для восстановления ОСВ и тургорного давления.

Изменение активности уже существующих в мембране водных каналов играет важную роль в регуляции водной проводимости мембран при стрессах. Одним из механизмов такой регуляции является фосфорилирование и дефосфорилирование аквапоринов. Фосфорилирование приводит к активации, а дефосфорилирование соответственно к снижению активности водных каналов.

Защитные и регуляторные функции белков, индуцируемых водным дефицитом.

Из множества белков, появление которых в клетках растений вызвано водным дефицитом, одни вовлечены в формирование механизмов устойчивости непосредственно, тогда как другие участвуют в регуляции экспрессии генов, индуцируемых стрессором. В соответствии с этим гены, экспрессируемые в растениях при водном стрессе, подразделяют на функциональные и регуляторные. Первая группа включает гены, которые отвечают непосредственно за формирование механизмов устойчивости, т.е. биосинтез аквапоринов, образующих водные каналы, ферментов, требующихся для биосинтеза осмолитов (пролина, глицин-бетаина, многоатомных спиртов и др.), белков, которые защищают макромолекулы и мембраны (Lea-белков, шаперонов и др.), протеаз и убиквитинов, ускоряющих белковый обмен в стрессовых условиях, а также ферментов, участвующих в детоксикации (супероксиддисмутаза, аскорбатпероксидаза, глутатион-Б-трансфераза и др.).

Вторая группа содержит гены белков, которые участвуют в передаче сигнала при экспрессии других генов, формирующих механизмы устойчивости, таких, например, как гены протеинкиназ, фосфолипазы С и 14-3-3-белков. К этой группе относятся гены транскрипционных факторов, которые «узнают» ДНК-элементы в генах, экспрессируемых при стрессе.

Вопросы для самоконтроля

1. Неблагоприятные факторы биотической и абиотической природы.
2. Ответные реакции растений на действие стрессоров.
3. Специфические и неспецифические реакции.
4. Природа неспецифических реакций.
5. Стрессовые белки и их функции.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

а) основная литература (библиотека СГАУ)

1. **Кошкин, Е. И.** Физиология устойчивости сельскохозяйственных культур : учебник / Е. И. Кошкин. - М. : Дрофа, 2010. - 638 с. : ил. - (Учебники и учеб. пособия для студентов высш. учеб. заведений). - ISBN 978-5-358-07798-0
2. Физиология и биохимия сельскохозяйственных растений : учебник / Н. Н. Третьяков [и др.]; ред. Н. Н. Третьяков. - М.: КолосС, 2005. - 656 с. : ил. - (Учебники и учеб. пособия для студентов высш. учеб. заведений). - ISBN 5-9532-0185-0

б) дополнительная литература

1. Биохимия: учебник / В. Г. Щербаков, В. Г. Лобанов, Т. Н. Прудникова. - 3-е изд., испр. и доп. - СПб. : ГИОРД, 2009. - 472 с. : ил. - ISBN 5-98879-008-9
2. **Козьмина, Н. П.** Зерноведение с основами биохимии растений : научное издание / Н. П. Козьмина, В. А. Гунькин, Г. М. Суслянок. - М. : Колос, 2006. - 464 с.: ил. - (Теоретические основы прогрессивных технологий: биотехнология). - ISBN 5-10-0039.
3. Основы биохимии: практикум / ФГОУ ВПО СГАУ, Факультет защиты растений и агроэкологии; сост. С. В. Душехватов. - Саратов: ФГОУ ВПО "Саратовский ГАУ", 2009. - 80 с.
4. Физиология растений с основами экологии: учебное пособие / И. В. Сергеева, А. И. Перетятко. - Саратов: ФГБОУ ВПО "Саратовский ГАУ", 2011. - 344 с.: ил. - ISBN 978-5-7011-0740-1

Лекция 2.

ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС.

2.1. Активные формы кислорода. Характеристика основных форм кислорода. Биологическое значение активных форм кислорода.

Окислительный стресс в растениях возникает в условиях, способствующих формированию активных форм кислорода (АФК). Напомним, что к АФК относят анион-радикал $O_2^{\cdot-}$, пероксид водорода H_2O_2, гидроперекисный радикал HO_2^-, гидроксил-радикал $HO^\bullet$, а также синглетный кислород $^1O_2$ и озон O_3. Высокое содержание АФК в клетках приводит к повреждению биомолекул и может вызвать гибель растений. Процессы, приводящие к образованию АФК, роль АФК в растениях и антиоксидантные системы, снижающие их концентрации в клетках до нетоксического уровня, уже рассматривались в гл. 3 и 4 в связи с функционированием электрон-транспортных цепей в различных клеточных органеллах и защитой клеток от избыточного освещения, приводящего к фотоингибированию фотосинтеза. В связи с этим в этом разделе мы остановимся в основном на АФК-индуцируемых повреждениях биомолекул, на процессах детоксикации вторичных продуктов взаимодействия АФК с биомолекулами, а также на эффектах озона, которые не рассматривались в других разделах.

Окислительный стресс в растениях возникает в результате действия практически всех неблагоприятных факторов внешней среды, включая засуху, почвенное засоление, загрязнение воздуха токсическими соединениями, такими, например, как озон, оксиды серы и азота, тяжелые металлы, низкие и высокие температуры, свет высокой интенсивности, ультрафиолетовое излучение, недостаток элементов минерального питания, некоторые гербициды, в частности паракват (метил-виологен), патогены различной природы и др. Можно сказать, что окислительный стресс входит как компонент в большинство других стрессов. Такая универсальность в индукции окислительного стресса при действии на растения самых разнообразных неблагоприятных факторов внешней среды указывает на принципиально важную роль антиоксидантных систем, снижающих внутриклеточные концентрации АФК, а также систем, ликвидирующих токсические продукты взаимодействия АФК с биополимерами и повышающих устойчивость растений к неблагоприятным факторам среды вообще.

В норме концентрации АФК в клетках не высоки: концентрация $O_2^{\cdot-}$ составляет порядка 10^{-11} М, H_2O_2 — 10^{-8} М, $HO^\bullet$ — меньше 10^{-11} М. Возрастание внутриклеточных концентраций АФК при стрессах, и особенно $HO^\bullet$, ведет к повреждениям молекул липидов, нуклеиновых кислот и белков. Взаимодействуя с ними, АФК вызывают образование органических гидропероксидов типа ROOH. Изменения макромолекул под действием АФК называются *окислительными модификациями* (ОМ) макромолекул. Органические гидропероксиды ROOH по своей структуре подобны H_2O_2

(ср.: R—O—O—H и H—O—O—H) и характеризуются высокой реакционной способностью. При последующих превращениях они переходят в спирты, альдегиды, эпоксиды и другие окисленные органические соединения. Образование ROOH называют *перекисным окислением.*

2.2. Окислительный стресс и запрограммированная смерть клетки.

Повреждения липидов. АФК приводят к *перекисному окислению липидов (ПОЛ),* вызывая в остатках полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) цепные реакции с

образованием липидных радикалов L$^\bullet$, пероксилов LOO$^\bullet$, гидропероксидов LOOH и алкоксилов LO$^\bullet$:

$$LH \xrightarrow[-H_2O]{+HO^\bullet} L^\bullet \xrightarrow{+O_2} LOO^\bullet \xrightarrow{+LH} L^\bullet \rightarrow \ldots$$

$$LOO^\bullet \rightarrow LOOH \xrightarrow[-Fe^{3+},\ -HO^\bullet]{+Fe^{2+}} LO^\bullet \xrightarrow[-LOH]{+LH} L^\bullet \rightarrow \ldots$$

Первые три превращения (верхняя строка) представляют собой начало и ход цепной реакции. В ходе третьего превращения наряду с липидным радикалом L$^\bullet$ образуется гидропероксид LOOH. Последний, взаимодействуя с ионами металлов переменной валентности, находящихся в восстановленной форме, например с Fe^{2+} или Cu^{+}, создают разветвления цепи (нижняя строка). Накапливающиеся в результате цепной реакции гидропероксиды жирных кислот, входящих в состав липидов, подвергаются распаду по следующей схеме:

$$-CH_2-CH(O{-}OH)-CH{=}CH- \rightarrow -CH_2-CH{=}O + O{=}CH-CH_2-$$

Гидропероксид Карбонильные соединения

Продукты расщепления, несущие двойную связь, под действием радикалов подвергаются дальнейшему перекисному окислению и распаду. В результате ЖК образуют целый спектр соединений. Многие из них представляют собой альдегиды, которые обладают высокой биологической активностью и часто высокотоксичны. При распаде жирных кислот, сопровождающем ПОЛ, сначала образуются диеновые конъюгаты, а затем такие метаболиты, как малоновый диальдегид $O{=}CH-CH_2-CH{=}O$. Продуктами ПОЛ могут быть и более простые соединения, например такие, как пентан и этан. ПОЛ прежде всего повреждает клеточные мембраны, что в свою очередь приводит к нарушениям функций мембранных белков и нарушению внутриклеточной компартментации веществ. Продукты ОМ липидов

(4-гидроксиалкенали, соединения типа C_5H_9—CHOH—CH=CH—CHO и малоновый диальдегид) вызывают мутации и блокируют клеточное деление.

Прежде ПОЛ считали исключительно спонтанным процессом, протекающим без участия ферментов. Затем было показано, что важную роль в ПОЛ играют и ферментативные реакции, в частности реакции, катализируемые липоксигеназами. Окисление липидов с помощью этих ферментов приводит к образованию специфических веществ — эйкозаноидов, выполняющих функцию сигнальных молекул при экспрессии генов.

Повреждения нуклеиновых кислот

АФК вызывают окислительную модификацию нуклеотидов и нуклеиновых кислот, особенно ДНК. Наиболее заметное действие оказывает HO$^\bullet$, который модифицирует все четыре основания в молекуле ДНК, образуя множество производных форм. $^1O_2$ избирательно атакует гуанин, а $O_2^{\bar{\cdot}}$ и H_2O_2 не реагируют с основаниями ДНК вообще. Под действием АФК нуклеотиды подвергаются перекисному окислению. Так, из тимина образуется 5-CH_2OOH-урацил:

Тимин → 5-CH_2OOH-урацил

Дальнейшее превращение образовавшихся перекисей приводит к гидропроизводным типа ROH или $R(OH)_2$, главным из которых является 8-гидроксигуанин:

8-Гидроксигуанин

Эта окислительная модификация гуанина приводит к нарушениям ферментативного процесса метилирования цитозиновых оснований, которые соседствуют с модифицированными гуанозиновыми основаниями. Модификации оснований, вызванные АФК, становятся причиной разрывов цепей ДНК и повреждений хромосом. АФК являются мощными мутагенными агентами, ингибиторами синтеза ДНК и деления клеток.

Повреждения белков.

Белки, так же как липиды и нуклеиновые кислоты, повреждаются активными формами кислорода. При действии АФК происходит окисление аминокислот с образованием пероксильных радикалов:

Алкоксильный радикал Пероксильный радикал Гидропероксид

Из пероксильных радикалов образуются гидропероксиды и алкоксильные радикалы. Последние обладают высокой реакционной способностью и сами могут индуцировать образование высокореактивных соединений радикальной природы. Гидропероксиды также генерируют новые радикалы, если имеются ионы металлов переменной валентности. Производными пероксидных групп (—С—О—ОН) являются группы — СОН (*о*- и *м*-тирозины), —$C(OH)_2$, карбонилы и другие соединения. Образуются также димеры (дитирозины) и происходит окислительное гликозилирование белков. АФК-индуцированные окислительные модификации аминокислот приводят к нарушению третичной структуры белков, к их денатурации и аггрегации с сопутствующей потерей функциональной активности.

2.3. Устойчивость к активным формам кислорода. Способность снижения образования активных форм кислорода. Механизмы детоксикации АФК.

Наряду с ферментами, осуществляющими ликвидацию АФК (супероксиддисмутазой, аскорбатпероксидазой, глютатионредуктазой и др.), большое значение в устойчивости растений к окислительному стрессу имеют ферменты, включенные в детоксикацию продуктов взаимодействия АФК с биомолекулами, т. е. продуктов окислительной деградации липидов, белков и нуклеиновых кислот. К таким ферментам относятся глиоксалаза I (Гл I) и глиоксалаза II (Гл II), образующие глиоксалазную систему.

Кофактором реакций, осуществляемых глиоксалазами, является восстановленный глютатион (Г-SH). Глиоксалазная система осуществляет превращение многих кетоальдегидов в органические кислоты по следующей схеме:

RCOCHO
Кетоальдегид
↓ Г-SH, Спонтанно
RCOCH(OH)-SГ
↓ Гл I
RCH(OH)CO-SГ
↓ H_2O → Г-SH, Гл II
RCH(OH)COOH
Органическая кислота

Важная роль в детоксикации продуктов окислительной модификации биомолекул принадлежит также глютатион-S-трансферазам (ГST). Эти ферменты осуществляют превращение самых разнообразных химических соединений, имеющих электрофильную природу, т.е. способных принимать электрон от нуклеофильного донора. Функцию нуклеофильного донора электронов в реакциях, катализируемых TST, выполняет атом серы восстановленного глутатиона. В

ГST-реакции электрофильные продукты окислительной модификации биополимеров (R—X) взаимодействуют с восстановленным глутатионом, формируя конъюгат:

Глу | Цис—SH | Гл (Глутатион) + R—X (Токсичный продукт ОМ) —ГST→ Глу | Цис—S—R | Гл (Конъюгат) + X—H

Здесь X означает химическую группу, которая, восстанавливаясь в ходе ферментативной реакции, отделяется от молекулы токсичного вещества (как это показано на схеме) или остается в его составе. И в том и в другом случае продукты ферментативной реакции подвергаются дальнейшим превращениям с участием других ферментов, образуя в конце концов нетоксичное соединение. Следует отметить важную роль FST в детоксикации не только продуктов окислительной модификации биомолекул, но и ксенобиотиков.

Вопросы для самоконтроля

1. Активные формы кислорода. Характеристика основных форм кислорода.
2. Биологическое значение активных форм кислорода.
3. Окислительный стресс и запрограммированная смерть клетки.
4. Устойчивость к активным формам кислорода.
5. Способность снижения образования активных форм кислорода.
6. Механизмы детоксикации АФК.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

а) основная литература (библиотека СГАУ)

3. **Кошкин, Е. И.** Физиология устойчивости сельскохозяйственных культур : учебник / Е. И. Кошкин. - М. : Дрофа, 2010. - 638 с. : ил. - (Учебники и учеб. пособия для студентов высш. учеб.

заведений). - ISBN 978-5-358-07798-0
4. Физиология и биохимия сельскохозяйственных растений : учебник / Н. Н. Третьяков [и др.]; ред. Н. Н. Третьяков. - М.: КолосС, 2005. - 656 с. : ил. - (Учебники и учеб. пособия для студентов высш. учеб. заведений). - ISBN 5-9532-0185-0

б) дополнительная литература

5. Биохимия: учебник / В. Г. Щербаков, В. Г. Лобанов, Т. Н. Прудникова. - 3-е изд., испр. и доп. - СПб. : ГИОРД, 2009. - 472 с. : ил. - ISBN 5-98879-008-9
6. **Козьмина, Н. П.** Зерноведение с основами биохимии растений : научное издание / Н. П. Козьмина, В. А. Гунькин, Г. М. Суслянок. - М. : Колос, 2006. - 464 с.: ил. - (Теоретические основы прогрессивных технологий: биотехнология). - ISBN 5-10-0039.
7. Основы биохимии: практикум / ФГОУ ВПО СГАУ, Факультет защиты растений и агроэкологии ; сост. С. В. Душехватов. - Саратов: ФГОУ ВПО "Саратовский ГАУ", 2009. - 80 с.
8. Физиология растений с основами экологии: учебное пособие / И. В. Сергеева, А. И. Перетятко. - Саратов: ФГБОУ ВПО "Саратовский ГАУ", 2011. - 344 с.: ил. - ISBN 978-5-7011-0740-1

Лекция 3.

ВЫСОКОТЕМПЕРАТУРНЫЙ СТРЕСС. ЖАРОУСТОЙЧИВОСТЬ.

3.1. Влияние теплового шока на клеточном уровне.

Важная роль температуры во взаимоотношениях организма и среды проявляется на всех уровнях его структурной и функциональной организации. Температурные сдвиги вызывают изменения структуры биополимеров, а следовательно, и скоростей биохимических реакций и физиологических процессов. От температуры в конечном счете зависит выживаемость организма, а географическое распределение видов на Земле происходит в соответствии с температурными градиентами.

Растения относятся к *эктотермным (пойкилотермным)* организмам, не способным поддерживать температуру своих органов и тканей на постоянном уровне. Этим они отличаются от *эндотермных (гомойотермных)* организмов, сохраняющих постоянство температуры тела (млекопитающие и птицы). Отсюда следует, что у растений приспособления к изменяющимся температурным условиям не связаны со стратегией избежания, а основаны на механизмах резистентности. Вместе с тем эндотермные механизмы в растительном мире могут встречаться в зачаточной форме.

Эктотермные организмы, в том числе растения, способны модифицировать биополимеры своих клеток таким образом, чтобы компенсировать изменения метаболизма, вызываемые температурными сдвигами. Новые разновидности макромолекул появляются *в ходе акклимации* растений к изменившейся температуре. Модификации макромолекул могут происходить также в эволюционном масштабе времени, т.е. *при адаптации* к новым температурным условиям. За счет модификаций биополимеров, происходящих в ходе эволюции, растениям различных климатических зон удается поддерживать относительно одинаковую интенсивность метаболизма. К такого рода модификациям биополимеров относится образование новых разновидностей ферментов с измененной каталитической активностью. Изменения в эффективности катализа направлены на компенсацию температурозависимых изменений скоростей реакций.

Поддержание скорости реакции на должном уровне может быть связано не только с появлением новой разновидности молекулы фермента, но и с изменением его содержания в клетке.

Помимо температурозависимых модификаций ферментов известны темпе - ратурозависимые модификации липидов, связанные с изменениями их текучести. От состояния мембранных липидов зависит каталитическая активность локализованных в мембранах ферментов.

С увеличением температуры скорости ферментативных реакций возрастают. Зависимость скорости реакции от температуры носит экспоненциальный характер, что описывается уравнением Аррениуса:

$$\kappa = Ae^{-E_a/RT}$$

где κ — константа скорости реакции; E_a — энергия активации реакции; R — газовая постоянная; T— абсолютная температура; A — коэффициент пропорциональности.

Из уравнения следует, что энергия активации наряду с температурой определяет скорость реакции. Скорость реакции тем выше, чем ниже энергия активации. Функция ферментов состоит в снижении энергии активации ферментативных реакций. Чем выше эффективность фермента, тем до более низкого значения снижается энергия активации.

У эктотермных организмов, обитающих при пониженных температурах, ферменты характеризуются более эффективным катализом, т. е. более низкими значениями энергия активации реакций. У эктотермных организмов, обитающих в условиях теплого климата,

наоборот, ферменты менее эффективны, т. е. энергия активации катализируемых ими реакций имеет более высокие значения.

Энергии активации ферментативных реакций изменяются также при акклимации организмов к новым температурным условиям: при понижении температуры они снижаются, а при повышении возрастают. Таким образом, энергия активации той или иной ферментативной реакции не является величиной постоянной: она изменяется в соответствии с температурными условиями среды обитания. Это положение получило обоснование при изучении каталитических свойств ферментов, выделенных из холодоустойчивых и теплолюбивых организмов, а также организмов, акклимированных к различным температурам.

Изменения каталитических свойств ферментов, т. е. их энергий активации, являются одним из важнейших типов приспособительных реакций организмов к изменяющимся температурным условиям и происходят в результате модификаций молекул ферментов.

Конформационные изменения фермента в ходе каталитической реакции сопровождаются разрывом или образованием слабых связей (водородных, электростатических, ван-дер-ваальсовых и гидрофобных), при этом освобождается или поглощается энергия. Энергетические сдвиги, связанные с изменением конформации, лежат в основе различий в величинах энергий активации ферментативных реакций.

Для конформационных изменений ферментов с более гибкой структурой при катализе требуется меньше энергии. У фермента с жесткой структурой конформационные изменения невозможны. Он был бы стабильным и долговечным, но нереакционноспособным. Фермент может сохранять свою структурную целостность и в то же время функционировать, когда между его стабильностью и гибкостью существует равновесие. Ферменты организмов, приспособленных к высоким температурам, для сохранения структурной целостности и функциональной активности должны иметь более жесткую структуру. Для ферментов организмов, приспособленных к низким температурам, необходима повышенная гибкость.

Стратегия приспособления к тому или иному температурному диапазону состоит в изменении числа (или типа) слабых взаимодействий в молекуле фермента. Приспособление к более высоким температурам связано с приобретением одной или нескольких дополнительных слабых связей. Дополнительные связи повышают термостабильность белка и в то же время снижают его каталитическую эффективность (увеличивают энергию активации). Разновидности ферментов, осуществляющих эффективный катализ при изменении температурных условий, появляются в результате модификаций их первичной структуры.

Другим типом приспособительных реакций растений к изменяющимся температурным условиям является поддержание относительно постоянного соотношения между константой Михаэлиса (K_m) и концентрацией субстрата [S]. Константа Михаэлиса для субстрата должна поддерживаться в пределах, приблизительно соответствующих середине диапазона физиологических концентраций субстрата. При таком соотношении K_m и [S] используется значительная часть каталитического потенциала фермента, и в то же время фермент далек от состояния насыщения субстратом, т.е. сохраняет резерв для ускорения реакции в ответ на повышение концентрации субстрата или регуляторные сигналы.

Как показали эксперименты на выделенных ферментах, изменения температуры приводят к изменениям K_m. Константа Михаэлиса растет при повышении температуры. Вместе с тем и у растительных, и у животных организмов, обитающих при различных температурных условиях, K_m ферментов и концентрации их субстратов в клетках различаются очень мало. Относительное постоянство K_m и [S] поддерживается и при акклимации организма к изменившейся температуре.

Известно два пути поддержания постоянства K_m: 1) за счет изменений первичной структуры белка; 2) за счет изменения среды, в которой фермент функционирует.

Изменения первичной структуры белка, приводящие к изменениям E_a и K_m, могут происходить в эволюционном масштабе времени и приводить к появлению новых форм белка и соответственно новых конститутивных признаков (адаптация). Новые разновидности фермента с кинетическими свойствами, отвечающими новым температурным условиям, могут появляться также в результате индукции стрессовых генов при акклимации растения к температурному сдвигу. Они могут появляться даже тогда, когда температура среды колеблется в пределах всего лишь 6 — 8 °С. Поскольку многие растения обитают в средах, где сезонные и даже суточные колебания температуры превышают 6 —8 °С, фермент, представленный только одной формой, не мог бы функционировать во всем диапазоне температур. Нужны две или больше разновидности фермента. Такие разновидности называются *изоферментами.* Изоцитратдегидрогеназа, например, существует в виде целого семейства изоферментов, каждый из которых функционирует в узком температурном диапазоне. Известна сезонность в появлении множественности форм ферментов.

Поддержание относительно постоянного отношения K_m/[S] часто связано с изменением pH среды, в которой фермент функционирует. Хорошо известно, что при повышении температуры в клетках растений снижается pH цитоплазмы. У ряда ферментов это компенсирует изменения K_m, индуцированные температурными сдвигами.

Многие растения способны компенсировать влияние температуры на скорость биохимических реакций путем *изменения содержания* ферментов в клетках. В первую очередь это относится к ферментам, которые лимитируют скорость ключевых процессов метаболизма, таких, например, как фотосинтез и дыхание. Так, активность фруктозо-1,6-бисфосфатазы в листьях коррелировала со скоростью фотосинтеза при акклимации олеандра *(Nerium oleander)* к температурным сдвигам. У олеандра этот фермент — главное лимитирующее звено в углеродном цикле и соответственно главный лимитирующий фактор в температурной компенсации фотосинтеза. Электрофорез показал, что число изоферментов фруктозо-1,6-бисфосфатазы при акклимации оставалось постоянным, но при этом изменялось количество фермента. При акклимации к низким температурам оно возрастало, а при акклимации к высоким — снижалось.

3.2. Влияние высокой температуры на уровне растения и ценоза. Высокотемпературный стресс в фазы вегетативного и генеративного развития. Урожайность и структура урожая в условиях температурного стресса.

Жароустойчивость во многом зависит от продолжительности действия высоких температур и их абсолютного значения. Большинство сельскохозяйственных растений начинает страдать при повышении температуры до 35—40 "С. При этих и более высоких температурах нормальные физиологические функции растения угнетаются, а при температуре около 50 °С происходят свертывание протоплазмы и отмирание клеток.

Превышение оптимального температурного уровня приводит к частичной или глобальной денатурации белков. Это вызывает разрушение белково-липидных комплексов плазмаллемы и других клеточных мембран, приводит к потере осмотических свойств клетки. В результате наблюдаются дезорганизация многих функций клеток, снижение скорости различных физиологических процессов. Так, при температуре 20 °С все клетки проходят процесс митотического деления, при 38 "С митоз отмечается в каждой седьмой клетке, а повышение температуры до 42 "С снижает число делящихся клеток в 500 раз (одна делящаяся клетка на 513 неделящихся).

Иллюстрацией влияния повышения температуры на белково-липидные комплексы могут служить следующие данные: при температуре 22 °С лизис ядер не наблюдается совсем, при повышении температуры до 38 "С он отмечается у 5,3 % исследованных клеток, а при температуре 52 °С практически все ядра лизированы. При максимальных

температурах расход органических веществ на дыхание превышает его синтез, растение беднеет углеводами, а затем начинает голодать (Н. А. Максимов, 1952).

Особенно резко это выражено у растений более умеренного климата (пшеница, картофель, многие огородные культуры). Общее ослабление повышает их восприимчивость к грибным заболеваниям. Фотосинтез более чувствителен к действию высоких температур, чем дыхание. При субоптимальных температурах растения прекращают рост и фотоассимиляцию, что обусловлено нарушением деятельности ферментов, повышением дыхательного газообмена, снижением его энергетической эффективности, усилением гидролиза полимеров, в частности белка, отравлением протоплазмы вредными для растения продуктами распада (аммиак и др.). У жаростойких растений в этих условиях увеличивается содержание органических кислот, связывающих избыточный аммиак.

При действии высоких температур в клетках растений индуцируется синтез стрессовых белков (белков теплового шока). Растения сухих, светлых мест обитания более стойки к жаре, чем тенелюбивые. Кратковременное влияние очень высоких темпера тур (43—45 °С) может быть таким же губительным, как и продолжительное воздействие более низких, но превышающих оптимальные значения температур. Способом защиты от перегрева может служить усиленная транспирация, обеспечиваемая мощной корневой системой.

В результате транспирации температура растений снижается иногда на 10—15 "С. Завядающие растения, с закрытыми устьицами, легче погибают от перегрева, чем достаточно снабженные водой. Растения сухую жару переносят легче, чем влажную, так как во время жары при высокой влажности воздуха регуляция температуры листьев за счет транспирации ограничена. Повышение температуры особенно опасно при сильной инсоляции. Для уменьшения интенсивности воздействия солнечного света растения располагают листья вертикально, параллельно его лучам (эректоидно). При этом хлоропласты активно перемещаются в клетках мезофилла листа, как бы уходя от избыточной инсоляции. Растения выработали систему морфологических и физиологических приспособлений, защищающих их от тепловых повреждений: светлую окраску поверхности, отражающую инсоляцию; складывание и скручивание листьев; опушения или чешуйки, защищающие от перегрева глубжележащие ткани; тонкие слои пробковой ткани, предохраняющие флоэму и камбий; большую толщину кутикулярного слоя; высокое содержание углеводов и малое — воды в цитоплазме и др.

В полевых условиях особенно губительно совместное действие высоких температур и обезвоживания. При длительном и глубоком завядании угнетаются не только фотосинтез, но и дыхание, что вызывает нарушение всех основных физиологических функций растения. Жароустойчивость в значительной степени определяется фазой роста и развития растений. Наибольший вред высокие температуры причиняют растениям на ранних этапах их развития, так как молодые, активно растущие ткани менее устойчивы, чем старые и «покоящиеся». Устойчивость к жаре у различных органов растений неодинаковая: менее устойчивы подземные органы, более — побеги и почки.

На тепловой стресс растения очень быстро реагируют индуктивной адаптацией. К воздействию высоких температур они могут подготовиться за несколько часов. Так, в жаркие дни устойчивость растений к высоким температурам после полудня выше, чем утром. Обычно эта устойчивость временная, она не закрепляется и довольно быстро исчезает, если становится прохладно. Обратимость теплового воздействия может составлять от нескольких часов до 20 дней. В период образования генеративных органов жаростойкость однолетних и двулетних растений снижается.

Вредное действие повышенных температур — одна из важнейших причин значительного снижения урожаев ранних яровых продолжительное воздействие более низких, но превышающих оптимальные значения температур. Способом защиты от

перегрева может служить усиленная транспирация, обеспечиваемая мощной корневой системой.

В результате транспирации температура растений снижается иногда на 10—15 "С. Завядающие растения, с закрытыми устьицами, легче погибают от перегрева, чем достаточно снабженные водой. Растения сухую жару переносят легче, чем влажную, так как во время жары при высокой влажности воздуха регуляция температуры листьев за счет транспирации ограничена. Повышение температуры особенно опасно при сильной инсоляции. Для уменьшения интенсивности воздействия солнечного света растения располагают листья вертикально, параллельно его лучам (эректоидно). При этом хлоропласты активно перемещаются в клетках мезофилла листа, как бы уходя от избыточной инсоляции. Растения выработали систему морфологических и физиологических приспособлений, защищающих их от тепловых повреждений: светлую окраску поверхности, отражающую инсоляцию; складывание и скручивание листьев; опушения или чешуйки, защищающие от перегрева глубжележащие ткани; тонкие слои пробковой ткани, предохраняющие флоэму и камбий; большую толщину кутикулярного слоя; высокое содержание углеводов и малое — воды в цитоплазме и др.

В полевых условиях особенно губительно совместное действие высоких температур и обезвоживания. При длительном и глубоком завядании угнетаются не только фотосинтез, но и дыхание, что вызывает нарушение всех основных физиологических функций растения. Жароустойчивость в значительной степени определяется фазой роста и развития растений. Наибольший вред высокие температуры причиняют растениям на ранних этапах их развития, так как молодые, активно растущие ткани менее устойчивы, чем старые и «покоящиеся». Устойчивость к жаре у различных органов растений неодинаковая: менее устойчивы подземные органы, более — побеги и почки.

На тепловой стресс растения очень быстро реагируют индуктивной адаптацией. К воздействию высоких температур они могут подготовиться за несколько часов. Так, в жаркие дни устойчивость растений к высоким температурам после полудня выше, чем утром. Обычно эта устойчивость временная, она не закрепляется и довольно быстро исчезает, если становится прохладно. Обратимость теплового воздействия может составлять от нескольких часов до 20 дней. В период образования генеративных органов жаростойкость однолетних и двулетних растений снижается.

Вредное действие повышенных температур — одна из важнейших причин значительного снижения урожаев ранних яровых при запаздывании с их посевом. Например, у пшеницы в фазе кущения в конусе нарастания идет дифференциация колосков. Высокая температура почвы и воздуха приводит к повреждению конуса нарастания, ускоряет процесс и сокращает время прохождения IV—V этапов, в результате уменьшается число колосков в колосе, а также число цветков в колоске, что приводит к снижению урожая.

При совместном действии жары и сухости почвы, что характерно для районов Юго-Востока, в этот период в зачаточном колосе оказываются поврежденными все закладывающиеся цветки, в результате после колошения колос очень быстро засыхает и белеет — явление пустоколосицы или белоколосицы. Для многих растений жара особенно опасна в период цветения, так как вызывает стерильность цветков и опадение завязей. Так, действие высокой температуры и низкой влажности в период, когда в пыльниках пшеницы образуется пыльца, а затем идет процесс оплодотворения, приводит к череззернице (не полностью озерненному колосу) и пустоколосью. Высокая температура в период молочной зрелости яровой пшеницы вызывает щуплость зерна — «запал».

3.3. Молекулярно-генетические аспекты повышения жаростойкости.

Лабораторная инфильтрация в ткани листьев растворов Сахаров (глюкоза, галактоза, сахароза, маннит, лактоза, мальтоза, раффиноза) значительно повышает устойчивость к

перегреву. Возможно, что сахара «консервируют» структуру митохондрий, которая становится менее чувствительной к тепловому стрессу, и этим сохраняют энергетическую функцию митохондрий (Ю. Г. Молотковский, 1961).

П. А. Генкель (1982) предложил для повышения жароустойчивости сахарной свеклы, моркови, томата, дыни обрабатывать их семена перед посевом 0,25%-ным раствором хлорида кальция (CaC12) в течение 20 ч. Однако эффективность подобной обработки семян нестабильна. Для повышения жароустойчивости растений рекомендуют некорневую обработку посевов 0,05%-ным раствором солей цинка. Хороший эффект дают освежительные поливы дождеванием во второй половине дня (20—30 м3 воды на 1 га).

Для древесных растений (кустарников и плодовых деревьев) рекомендуют побелку: солнечный свет отражается от стволов, и они предохраняются от перегрева. Из мер, направленных на борьбу с повышенной температурой, можно отметить посадку полезащитных полос и полив. Оптимальная температура клубнеобразования у картофеля около 17 °С. При культуре картофеля в южных районах России и государств СНГ высокие температуры почвы во время роста и созревания клубней вызывают израстание, вырождение клубней, ускоряя прохождение в них изменений, приводящих к их одряхлению, снижению урожайности, потере клубнями сортовых и семенных качеств (неправильная форма клубней, несвойственная сорту окраска и др.).

Использование вырожденных клубней для посадки приводит к снижению урожая. Для борьбы с вырождением картофеля в южных районах используют летнюю (июльскую) посадку его на семена, когда развитие клубней совпадает с уже более холодной погодой сентября.

Вопросы для самоконтроля

1. Влияние теплового шока на клеточном уровне.
2. Влияние высокой температуры на уровне растения и ценоза.
3. Высокотемпературный стресс в фазы вегетативного и генеративного развития.
4. Урожайность и структура урожая в условиях температурного стресса.
5. Молекулярно-генетические аспекты повышения жаростойкости.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

а) основная литература (библиотека СГАУ)

1. **Кошкин, Е. И.** Физиология устойчивости сельскохозяйственных культур : учебник / Е. И. Кошкин. - М. : Дрофа, 2010. - 638 с. : ил. - (Учебники и учеб. пособия для студентов высш. учеб. заведений). - ISBN 978-5-358-07798-0
2. Физиология и биохимия сельскохозяйственных растений : учебник / Н. Н. Третьяков [и др.]; ред. Н. Н. Третьяков. - М.: КолосС, 2005. - 656 с. : ил. - (Учебники и учеб. пособия для студентов высш. учеб. заведений). - ISBN 5-9532-0185-0

б) дополнительная литература

1. Биохимия: учебник / В. Г. Щербаков, В. Г. Лобанов, Т. Н. Прудникова. - 3-е изд., испр. и доп. - СПб. : ГИОРД, 2009. - 472 с. : ил. - ISBN 5-98879-008-9
2. **Козьмина, Н. П.** Зерноведение с основами биохимии растений : научное издание / Н. П. Козьмина, В. А. Гунькин, Г. М. Суслянок. - М. : Колос, 2006. - 464 с.: ил. - (Теоретические основы прогрессивных технологий: биотехнология). - ISBN 5-10-0039.
3. Основы биохимии: практикум / ФГОУ ВПО СГАУ, Факультет защиты растений и агроэкологии ; сост. С. В. Душехватов. - Саратов: ФГОУ ВПО "Саратовский ГАУ", 2009. - 80 с.
4. Физиология растений с основами экологии: учебное пособие / И. В. Сергеева, А. И. Перетятко. - Саратов: ФГБОУ ВПО "Саратовский ГАУ", 2011. - 344 с.: ил. - ISBN 978-5-7011-0740-1

Лекция 4.

ХОЛОДОСТОЙКОСТЬ РАСТЕНИЙ.

4.1. Действие гипотермии на клеточном уровне.

Растениям, обитающим в зоне отрицательных температур, приходится не только поддерживать внутриклеточные биополимеры в функционально активном состоянии, но и регулировать процессы образования льда в тканях. Внутриклеточное образование льда неизбежно приводит к гибели как теплолюбивых, так и морозоустойчивых растений, так как образующиеся внутри клеток кристаллы льда разрывают мембраны, приводя к нарушениям функций клеточных органелл. Теплолюбивые растения погибают даже тогда, когда лед образуется в межклетниках. Растения холодного климата, а также мезофиты (растения умеренного климата) выдерживают образование льда в межклеточной среде. У морозоустойчивых растений выработались механизмы, которые препятствуют образованию льда внутри клеток. Это можно рассматривать как важнейшую стратегию приспособления растений к отрицательным температурам.

Один из механизмов, предотвращающих внутриклеточное образование льда, сопряжен с выходом воды из клеток в экстрацеллюлярное пространство. При падении температуры до отрицательных значений в экстрацеллюлярной среде образуются кристаллы льда. Лед формирует градиент водного потенциала, направленный из клеток в межклетники. Выход воды из клеток по градиенту вызывает дальнейшую дегидратацию клеток и рост кристаллов льда в межклетниках, в то же время снижается вероятность образования внутриклеточного льда.

Образование внеклеточного льда и связанный с этим отток воды из клеток стимулируются специальными веществами, которые клетки экскретируют в апопласт. Являясь центрами кристаллизации воды, они повышают температурный порог зародышеобразования льда. Такие соединения называются гетерогенными нуклеаторами, а стимулируемый ими процесс зародышеобразования льда — гетерогенной нуклеацией. Гетерогенные нуклеаторы могут быть белковой, фосфолипидной или полисахаридной природы. Гетерогенными нуклеаторами становятся различные твердые включения, выполняющие роль «затравок» для образования кристаллов. Часто такими «затравками» служат эпифитные бактерии, населяющие межклеточную среду.

От гетерогенной отличают гомогенную нуклеацию. Она происходит в среде, не содержащей нуклеаторов, и характеризуется гораздо более низкой пороговой температурой зародышеобразования льда, чем гетерогенная нуклеация. При гомогенной нуклеации кристаллы льда не формируются и не растут до тех пор, пока достаточное число молекул воды не сформирует зародыш льда.

Гомогенную нуклеацию можно получить, если чистую воду диспергировать на мелкие капли. В этом случае вода замерзает только при -38 °С. При гомогенной нуклеации водные растворы низкомолекулярных веществ, например солей, Сахаров и полиспиртов, за счет их криоскопического действия замерзают при еще более низких температурах. Благодаря гетерогенным нуклеаторам лед в межклетниках образуется при более высоких температурах, чем те, которые требуются для замерзания внутриклеточной среды (как отмечалось выше, образование льда в клетках более губительно, чем в межклетниках).

Выход воды наружу при внеклеточном образовании льда хотя и предотвращает образование внутриклеточного льда, тем не менее сопровождается неблагоприятными для клеток эффектами дегидратации. В связи с этим адаптация и акклимация растений к низким температурам включает формирование механизмов, которые повышают резистентность клеток к обезвоживанию. Считается, что морозоустойчивость мезофитов в первую очередь определяется способностью их клеток выдерживать дегидратацию. Защита клеток при дегидратации, вызываемой отрицательными температурами, так же,

как при засухе и солевом стрессе, связана с биосинтезом осмопротекторов, прежде всего низ¬комолекулярных Сахаров и полиспиртов. Одна из основных функций этих веществ состоит в защите внутриклеточных биополимеров. Специфической функцией осмопротекторов при дегидратации клеток, вызванной низкими температурами, является понижение температуры замерзания внутриклеточной среды. Остается неясным, как соотносится выход воды из клеток при образовании льда с увеличением внутриклеточного осмотического давления, происходящего в результате накопления осмопротекторов.

4.2. Низкотемпературный контроль эксперессии генов.

Растения отвечают на низкотемпературную обработку экспрессией ряда генов. Продукты этих генов получили название белков холодового шока (БХШ). Значительная часть этих белков идентифицирована, однако функциональная роль большинства из них остается неясной. Низкотемпературной обработкой индуцируются Lea-белки, относящиеся ко второй и пятой группам. Индукция этих белков происходит в ответ на водный дефицит, который является составной частью холодового шока (ХШ). К БХШ относятся также продукты некоторых уникальных генов, экспрессирующихся в растениях при отрицательных температурах. Один из генов, COR15a, входит в состав ядерного генома. Продуктом этого гена является гидрофильный белок, который транспортируется в хлоропласт и там подвергается процессингу, превращаясь в зрелый белок COR15am (мол. масса 9,4 кДа). Протопласты не прошедших акклимацию трансгенных растений *A.thaliana,* которые конститутивно экспрессируют ген COR15a, характеризуются повышенной резистентностью к замораживанию.

Многие гены белков ХШ содержат в промоторной области DRE-элемент, который связывается с активатором транскрипции DREBP. Сверхэкспрессия DREBP в протопластах трансгенных растений *A. thaliana,* обладающих повышенной устойчивостью к низким температурам, вызывала увеличение количества транскриптов всех генов COR, причем устойчивость повышалась в большей степени, чем при сверхэкспрессии одного гена COR15a. Это указывает на важную роль генов регуляторных белков в формировании толерантности к низким температурам.

4.3. Физиологические процессы в условиях пониженных температур.

Выход воды из клеток и образование внеклеточного льда, стимулируемое гетерогенными нуклеаторами, происходит при относительно высоких отрицательных температурах. Для тканей многих древесных пород пороговые температуры внеклеточного образования льда лежат в диапазоне от -2° до -5 °С. В листьях высокоустойчивой к морозу озимой ржи (Secale cereale) нуклеация льда в межклетниках происходит при -5°...-12 °С, тогда как нижний темпера¬турный предел выживаемости этого растения составляет -30°...-35°С. Оставшаяся в клетках вода после образования льда в межклеточной среде не замерзает при последующем снижении температуры. Такая вода называется переохлажденной. Температура образования льда в клетках, выше которой вода находится в переохлажденном состоянии, приблизительно совпадает с нижним температурным пределом выживаемости растения.

В основе способности растений сохранять воду в клетках в жидком состоянии при очень низких отрицательных температурах лежит так называемый механизм переохлаждения. Он чрезвычайно важен в обеспечении резистентности растений к замораживанию.

Для исследования способности клеток к переохлаждению используют термический дифференциальный анализ. Ткань или орган растения постепенно охлаждают и с помощью термопар регистрируют разность температур между охлаждаемым и контрольным образцами. Образование льда — процесс экзотермический, т.е. происходит с

выделением тепла, и на термограмме ему соответствует экзотермический пик, который называется низкотемпературной экзотермой (НТЭ). Дифференциальный термический анализ был сделан для многих растений. Рекордно низкая температура замерзания клеток была установлена для таких растений холодного климата, как черный ясень (Fraxinus nigra) (-47 °С) и виргинский можжевельник (Juniperus virginiana) (-52 °С). У растений теплого климата НТЭ лежат в области -10°...-20 "С. Низкие температуры за¬мерзания внутриклеточной среды характерны для цветочных почек древес¬ных и травянистых растений, а также зародышей семян. Переохлаждение характеризуется температурным гистерезисом, т.е. различием в температуре замерзания и последующего оттаивания. Например, если НТЭ выявляется при -30°...-40°С, то оттаивание может происходить при -20°С.

Чтобы понять, на чем основана способность клеток к переохлаждению, необходимо ответить на два вопроса: 1) почему внутриклеточная вода не замерзает до НТЭ, т. е. что препятствует образованию льда в клетках и 2) почему не замерзающая до НТЭ вода не выходит из клеток?

Ответ на первый вопрос следует искать в необычных свойствах внутриклеточной воды, в наличии в клетках низкомолекулярных криопротекторов и в отсутствии гетерогенных нуклеаторов. Значительная часть внутриклеточной воды находится в связанном состоянии. В связывании воды участвуют как биополимеры клетки, так и осмопротекторы, особенно те из них, которые содержат большое число гидроксильных групп. Гидратная оболочка маннитола содержит, например, 200 — 250 молекул воды. Необычные свойства внутриклеточной воды связаны также с наличием в клетках многочисленных поверхностей раздела фаз. Вода вблизи этих поверхностей может сильно переохлаждаться. Моделью такой системы являются тонкие кварцевые капилляры, вода в них замерзает при -34 °С. В ионообменных смолах ячеистого строения вода также переохлаждается, замерзая при -30 °С. Остается неясным, участвуют ли в предотвращении образования внутриклеточного льда высокомолекулярные антифризы.

Ответ на второй вопрос связан прежде всего с анатомическими особенностями тканей, способных к переохлаждению. Отсутствие оттока воды в межклетники в таких тканях нельзя объяснить низкой водной проницаемостью плазмалеммы. Препятствие для миграции воды из клеток создают анатомические барьеры.

Отсутствие оттока воды из клеток в тканях цветочных почек у древесных растений обусловлено лигнификацией и суберинизацией клеточных стенок. Необычно жесткие и упругие стенки паренхимных клеток древесины препятствуют сжатию связанных с ними протопластов. За счет этого водоотнимающие силы развивают в клетках отрицательное тургорное давление, понижающее водный потенциал клеток. Важная роль в удержании воды клетками отводится также осмолитам, концентрация которых в клетках морозоустойчивых растений высока и повышается при акклимации к отрицательным температурам. Высокое содержание в клетках осмолитов полигидроксильной природы не только отвечает за повышение внутриклеточного осмотического давления (снижение водного потенциала), но и приводит, как уже отмечалось, к увеличению уровня связанной воды.

Механизм переохлаждения имеет ряд преимуществ по сравнению с механизмом, основанным на внеклеточном образовании льда. При обезвоживании клеток наблюдаются различного рода нарушения структуры макромолекул, биохимических процессов и физиологических функций. При переохлаждении потери воды минимальны, что важно для активно метаболизирующих тканей, например тканей развивающегося из почки побега. Наблюдаемые весной бурный рост и развитие побега из почки при дегидратации потребовали бы предварительной репарации меристематических клеток, на что необходимо время. В случае механизма переохлаждения растения при повышении температуры могут сразу перейти к активной вегетации, так как в этом случае все структуры остаются неповрежденными. Состояние переохлажденных клеток можно

охарактеризовать как физиологический покой. В этом состоянии отсутствуют рост и дифференцировка, но идут процессы поддержания. С процессами поддержания связано сохранение дыхания и фотосинтеза. У ели (*Picea abies*), например, фотосинтез наблюдается при -14 °С. У многих морозоустойчивых растений дыхание сохраняется при -18°...-20°С. Механизм переохлаждения типичен для жизненно важных тканей и органов, которые переходят в активное состояние сразу при весеннем потеплении. К ним относятся почки, генеративные органы, паренхимные клетки древесины, клетки проводящих пучков. У хвойных механизм переохлаждения типичен для тканей листьев. В этих органах и тканях образование льда крайне нежелательно не только внутри клеток, но и в межклетниках. В то же время процесс образования внеклеточного льда, начавшийся в каком-то одном месте, быстро распространяется по растению и может захватить жизненно важные части растения. Как защита от этого, у зимостойких растений сформировались механизмы, регулирующие образование и распространение льда по межклетникам и сосудам ксилемы.

4.4. Устойчивость к холодовому стрессу.

Важная роль в резистентности к замораживанию принадлежит анатомическим барьерам, которые препятствуют распространению процесса образования льда по сосудам ксилемы. Эту роль можно оценить в полной мере, если учесть, что именно по ксилеме процесс нуклеации и роста кристаллов распространяется с наибольшей скоростью. Одним из типов анатомических барьеров для распространения образования льда является сегментация сосудов ксилемы: сосуды прерываются зонами, состоящими из трахеид. Сегментация сосудов обнаружена у многих зимостойких злаков и древесных растений. В почках некоторых растений сосуды ксилемы отделены от прилегающих к ним паренхимных клеток слоем аморфного вещества пектиновой природы, создающим непреодолимую преграду для распространения нуклеации льда в меристему.

4.5. Методы диагностики холодового повреждения.

Степень холодостойкости разных растений неодинакова. Многие растения южных широт повреждаются холодом. При температуре 3 °С повреждаются огурец, хлопчатник, фасоль, кукуруза, баклажан. Устойчивость к холоду у сортов различна. Для характеристики холодостойкости растений используют понятие "температурный минимум, при котором рост растений прекращается. Для большой группы сельскохозяйственных растений его величина составляет 4 °С. Однако многие растения имеют более высокое значение температурного минимума и соответственно они менее устойчивы к воздействию холода.

Накопление зеленой массы кукурузой не происходит при температуре ниже 10 °С. Устойчивость растений к холоду зависит от периода онтогенеза. Разные органы растений также различаются по устойчивости к холоду. Так, цветки растений более чувствительны, чем плоды и листья, а листья и корни чувствительнее стеблей. Наиболее холодостойкими являются растения раннего срока посева.

Для сравнения рассмотрим особенности прорастания малоустойчивой к холоду кукурузы. При температуре 18—20 °С всходы у кукурузы появляются на 4-й день, а при 10—12 °С — только на 12-й день. О холодостойкости растений косвенно можно судить по показателю суммы биологических температур. Чем меньше эта величина, тем быстрее растения созревают и тем выше их устойчивость к холоду. Показатели суммы биологических температур соответствуют скороспелости растений: очень раннеспелые имеют сумму биологических температур 1200 °С, раннеспелые — 1200—1600, среднераннеспелые — 1600—2200, среднеспелые — 2200—2800, среднепозднеспелые — 2800—3400, позднеспелые — 3400-4000 °С.

4.6. Пути повышения холодоустойчивости теплолюбивых культур.

У растений более холодостойких отмеченные нарушения выражены значительно слабее и не сопровождаются гибелью растения. Устойчивость к низким температурам — генетически детерминированный признак. Изменение уровня физиологических процессов и функций при действии низких положительных температур может служить диагностическим показателем при сравнительной оценке холодостойкости растений (видов, сортов). Холодостойкость растений определяется способностью растений сохранять нормальную структуру цитоплазмы, изменять обмен веществ в период охлаждения и последующего повышения температуры на достаточно высоком уровне.

Для оценки холодостойкости растений используют различные методы диагностики (прямые и косвенные). Это холодный метод проращивания семян, сверхранние посевы в сырую и непрогретую почву, учет интенсивности появления всходов, темпов роста, накопления массы, содержание хлорофилла, соотношение количества электролитов в надземной и подземной частях растения, оценка изменчивости изоферментного состава и др.

Холодостойкость некоторых теплолюбивых растений можно повысить закаливанием прорастающих семян и рассады, которое стимулирует защитно-приспособительную перестройку метаболизма растений. Наклюнувшиеся семена или рассаду теплолюбивых культур (огурец, томат, дыня и др.) в течение нескольких суток (до месяца) выдерживают при чередующихся (через 12 ч) переменных температурах: от 0 до 5 "С и при 15—20 "С.

Холодостойкость ряда растений повышается при замачивании семян в 0,25%-ных растворах микроэлементов. Повысить холодостойкость растений можно прививкой теплолюбивых растений (арбуз, дыня) на более холодоустойчивые подвои (тыква). Положительное влияние этих приемов связано со стабилизацией энергетического обмена и упрочением структуры клеточных органоидов у обработанных растений. У закаленных растений увеличение вязкости протоплазмы при пониженных температурах происходит медленнее.

Вопросы для самоконтроля

1. Действие гипотермии на клеточном уровне.
2. Низкотемпературный контроль эксперессии генов.
3. Физиологические процессы в условиях пониженных температур.
4. Устойчивость к холодовому стрессу.
5. Методы диагностики холодового повреждения.
6. Пути повышения холодоустойчивости теплолюбивых культур.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

а) основная литература (библиотека СГАУ)

1. **Кошкин, Е. И.** Физиология устойчивости сельскохозяйственных культур : учебник / Е. И. Кошкин. - М. : Дрофа, 2010. - 638 с. : ил. - (Учебники и учеб. пособия для студентов высш. учеб. заведений). - ISBN 978-5-358-07798-0
2. Физиология и биохимия сельскохозяйственных растений : учебник / Н. Н. Третьяков [и др.]; ред. Н. Н. Третьяков. - М.: КолосС, 2005. - 656 с. : ил. - (Учебники и учеб. пособия для студентов высш. учеб. заведений). - ISBN 5-9532-0185-0

б) дополнительная литература

1. Биохимия: учебник / В. Г. Щербаков, В. Г. Лобанов, Т. Н. Прудникова. - 3-е изд., испр. и доп. - СПб. : ГИОРД, 2009. - 472 с. : ил. - ISBN 5-98879-008-9
2. **Козьмина, Н. П.** Зерноведение с основами биохимии растений : научное издание /

Н. П. Козьмина, В. А. Гунькин, Г. М. Суслянок. - М. : Колос, 2006. - 464 с.: ил. - (Теоретические основы прогрессивных технологий: биотехнология). - ISBN 5-10-0039.
3. Основы биохимии: практикум / ФГОУ ВПО СГАУ, Факультет защиты растений и агроэкологии ; сост. С. В. Душехватов. - Саратов: ФГОУ ВПО "Саратовский ГАУ", 2009. - 80 с.
4. Физиология растений с основами экологии: учебное пособие / И. В. Сергеева, А. И. Перетятко. - Саратов: ФГБОУ ВПО "Саратовский ГАУ", 2011. - 344 с.: ил. - ISBN 978-5-7011-0740-1

Лекция 5.

МОРОЗОУСТОЙЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ.

5.1. Условия и причины вымерзания растений. Повреждение растений при действии морозов. Адаптация растений к действию отрицательных температур.

Морозоустойчивость — способность растений переносить температуру ниже 0 °С, низкие отрицательные температуры. Морозоустойчивые растения способны предотвращать или уменьшать действие низких отрицательных температур. Морозы в зимний период с температурой ниже ~20 °С обычны для значительной части территории России. Воздействию морозов подвергаются однолетние, двулетние и многолетние растения. Растения переносят условия зимы в различные периоды онтогенеза. У однолетних культур зимуют семена (яровые растения), раскустившиеся растения (озимые), у двулетних и многолетних — клубни, корнеплоды, луковицы, корневища, взрослые растения. Способность озимых, многолетних травянистых и древесных плодовых культур перезимовывать обусловливается их достаточно высокой морозоустойчивостью. Ткани этих растений могут замерзать, однако растения не погибают. Большой вклад в изучение физиологических основ морозоустойчивости внесли Н. А. Максимов (1952), Г. А. Самыгин (1974), И. И. Туманов (1979) и другие отечественные исследователи.

Замерзание растительных клеток и тканей и происходящие при этом процессы. Способность растений переносить отрицательные температуры определяется наследственной основой данного вида растений, однако морозоустойчивость одного и того же растения зависит от условий, предшествующих наступлению морозов, влияющих на характер льдообразования. Лед может образовываться как в протопласте клетки, так и в межклеточном пространстве.

Не всякое образование льда приводит клетки растения к гибели. Постепенное снижение температуры со скоростью 0,5—1 °С/ч приводит к образованию кристаллов льда прежде всего в межклеточниках и первоначально не вызывают гибели клеток.

Однако последствия этого процесса могут быть губительными для клетки. бразование льда в протопласте клетки, как правило, происходит при быстром понижении температуры. Происходит коагуляция белков протоплазмы, кристаллами образовавшегося в цитозоле льда повреждаются клеточные структуры, клетки погибают. Убитые морозом растения после оттаивания теряют тургор, из их мясистых тканей вытекает вода.

Условия и причины вымерзания растений. Образующийся при медленном промерзании в межклеточниках и клеточных стенках лед оттягивает воду из клеток; клеточный сок становится концентрированным, изменяется рН среды.

Выкристаллизовавшийся лед действует как сухой воздух, иссушая клетки и сильно изменяя их осмотические свойства. Кроме того, цитоплазма подвергается сжатию кристаллами льда. Образующиеся кристаллы льда вытесняют воздух из межклеточников, поэтому замерзшие листья становятся прозрачными.

Если льда образуется немного и клетки не были механически повреждены его кристаллами, то при последующем оттаивании такие растения могут сохранить жизнеспособность. Так, в листьях капусты при температуре —5...—6 "С образуется некоторое количество льда в межклеточниках. Однако при последующем медленном оттаивании межклеточники заполняются водой, которая поглощается клетками, и листья возвращаются в нормальное состояние.

Однако клетки, ткани и растения могут погибнуть от мороза. Основными причинами гибели клеток растений при низких отрицательных температурах и льдообразовании являются чрезмерное обезвоживание клеток или механическое давление, сжатие клеток

кристаллами льда, повреждающее тонкие клеточные структуры. Оба эти фактора могут действовать одновременно.

Летальность действия мороза определяется несколькими обстоятельствами. Последствия воздействия низких отрицательных температур зависят от оводненности тканей растения. Насыщенные водой ткани легко повреждаются, сухие же семена могут выносить глубокие низкие температуры (до —196 °С). Низкое содержание воды предохраняет от образования льда в растениях при промораживании. Разные растения, их клетки имеют свой критический предел обезвоживания и сжатия, превышение которого, а не только снижение температуры приводит к их гибели. Гибель клеток, тканей и растений под действием морозов обусловливается необратимыми изменениями, происходящими в протопласте клеток: его коагуляцией, денатурацией коллоидов протопласта, механическим давлением льда, повреждающим поверхностные структуры цитоплазмы, кристаллами льда, нарушающими мембраны и проникающими внутрь клетки. Вредное влияние оказывает повышение концентрации и изменение рН клеточного сока, сопровождающие обезвоживание клеток.

Действие льда, особенно при длительном влиянии низких температур, сходно с обезвоживанием клеток при засухе. Признаками повреждения клеток морозом являются потеря ими тургора, инфильтрация межклеточников водой и выход ионов из клеток. Выход ионов К+ и Сахаров из клеток, по-видимому, связан с повреждением мембранных систем их активного транспорта. Поврежденные растения при переносе в теплое место имеют вид ошпаренных, утрачивают тургор, листья быстро буреют и засыхают. При оттаивании мороженых клубней картофеля, корнеплодов кормовой и сахарной свеклы вода легко вытекает из тканей. Важно отметить, что состояние переохлаждения (без образования льда) растения переносят без вреда; при тех же температурах, но с образованием льда в тканях растения гибнут.

Растения по-разному реагируют на образование льда в тканях: клубни картофеля и георгина быстро погибают, капуста и лук переносят лишь умеренное промораживание, рожь и пшеница выдерживают на уровне узла кущения морозы до —15...—20 °С. У устойчивых к морозу растений имеются защитные механизмы, в основе которых лежат определенные физико-химические изменения. Морозоустойчивые растения обладают приспособлениями, уменьшающими обезвоживание клеток. При понижении температуры у таких растений отмечаются повышение содержания Сахаров и других веществ, защищающих ткани (криопротекторы), это прежде всего гидрофильные белки, моно- и олигосахариды; снижение оводненности клеток; увеличение количества полярных липидов и снижение насыщенности их жирнокислотных остатков; увеличение количества защитных белков.

На степень морозоустойчивости растений большое влияние оказывают сахара, регуляторы роста и другие вещества, образующиеся в клетках. В зимующих растениях в цитоплазме накапливаются сахара, а содержание крахмала снижается. Влияние сахаров на повышение морозоустойчивости растений многосторонне.

Накопление Сахаров предохраняет от замерзания большой объем внутриклеточной воды, заметно уменьшает количество образующегося льда.

Сахара защищают белковые соединения от коагуляции при вымораживании; они образуют гидрофильные связи с белками цитоплазмы, предохраняя их от возможной денатурации, повышают осмотическое давление и снижают температуру замерзания цитозоля. В результате накопления Сахаров содержание прочносвязанной воды увеличивается, а свободной уменьшается. Особое значение имеет защитное влияние Сахаров на белки, сосредоточенные в поверхностных мембранах клетки. Сахара увеличивают водоудерживающую способность коллоидов протоплазмы клеток; связанная с коллоидами вода в виде гидратных оболочек биополимеров при низких - температурах не замерзает и не транспортируется, оставаясь в клетке.

Криопротекторами являются также молекулы гемицеллюлоз (ксиланы, арабиноксиланы), выделяемые цитоплазмой в клеточную стенку, обволакивающие растущие кристаллы льда, что предотвращает образование крупных кристаллов, повреждающих клетку. Так клетки защищаются как от внутриклеточного льда, так и от чрезмерного обезвоживания. Значительное количество защитных белков и модификации молекул липидов увеличивают структурированность клеток. У большинства растений возрастает синтез водорастворимых белков. Белковые вещества, частично гидролизуясь, увеличивают содержание свободных аминокислот.

В тканях морозоустойчивых растений в конце лета и осенью накапливаются в достаточном количестве запасные вещества (прежде всего сахара), которые используются весной при возобновлении роста, обеспечивая потребности растений в строительном материале и энергии. Необходимо также учитывать устойчивость растений к болезням, вероятность развития которых увеличивается при повреждении тканей морозом.

5.2. Закаливание. Изменения, происходящие в растительном организме в ходе закалки.

Морозоустойчивость — не постоянное свойство растений. Она зависит от физиологического состояния растений и условий внешней среды. Растения, выращенные при относительно низких положительных температурах, более устойчивы, чем выращенные при относительно высоких осенних температурах. Свойство морозоустойчивости формируется в процессе онтогенеза растения под влиянием определенных условий среды в соответствии с генотипом растения, связано с резким снижением темпов роста, переходом растения в состояние покоя.

Жизненный цикл развития озимых, двуручек, двулетних и многолетних растений контролируется сезонным ритмом светового и температурного периодов. В отличие от яровых однолетних растений они начинают готовиться к перенесению неблагоприятных зимних условий с момента остановки роста и затем в течение осени во время наступления пониженных температур. Повышение морозоустойчивости растений тесно связано с закаливанием — постепенной подготовкой растений к воздействию низких зимних температур. Закаливание — это обратимая физиологическая устойчивость к неблагоприятным воздействиям среды.

Способностью к закаливанию обладают не все растения. Растения южного происхождения не способны переносить морозы. Способность к закаливанию у древесных и зимующих травянистых растений северных широт, переживающих значительное понижение температуры в зимний период, в период летней вегетации отсутствует и проявляется только во время наступления осенних пониженных температур (если растение к этому времени прошло необходимый цикл развития). Процесс закалки приурочен лишь к определенным этапам развития растений. Для приобретения способности к закаливанию растения должны закончить процессы роста.

Разные органы растений имеют неодинаковую способность к закаливанию, например, листья листопадных деревьев (яблоня, груша, вишня) не обладают способностью к закаливанию; цветочные почки закаливаются хуже, чем листовые. У вегетирующих растений легко вымерзают растущие и не закончившие рост органы. Выносливость растений к низким температурам в этот период незначительная.

Эффект закаливания может не проявиться, если по каким-либо причинам (засуха, поздний посев, посадки и др.) произошла задержка развития растений. Так, если в течение лета у плодовых растений процессы роста из-за летней засухи не успели закончиться, то зимой это может привести к гибели растений.

Дело в том, что засуха, приостанавливая рост летом, не позволяет растениям завершить его к осени. Одновременно при закалке должен произойти отток различных веществ из надземных органов в подземные зимующие (корневые системы, корневища,

луковицы, клубни). По этой же причине закалку травянистых и древесных растений ухудшает избыточное азотное питание, удлиняющее период роста до поздней осени, в результате растения не способны пройти процессы закаливания и гибнут даже при небольших морозах.

Яровые злаки при озимом посеве по сравнению с озимыми растут при более пониженных положительных температурах, в осенний период почти не снижают темпов роста и не способны к закаливанию. Большую роль в закаливании играют условия внешней среды. Так, на озимых культурах убедительно показана необходимость света для процесса закаливания. Сокращение фотопериода служит для растений сигналом к прекращению роста и стимулом для накопления ингибиторов в растениях. Вероятно, с этих процессов начинается формирование морозоустойчивости у растений.

Растения, выращенные при несоответствующем фотопериоде, не успевают завершить летний рост и не способны к закаливанию. Установлено, что длинный день способствует образованию в листьях черной смородины фитогормонов стимуляторов роста, а короткий — накоплению ингибиторов. В естественных условиях к закаливанию способен лишь организм в целом, при обязательном наличии корневой системы. По-видимому, в корнях вырабатываются вещества, повышающие устойчивость растения к морозу.

5.3. Химическая природа биологических антифризов.

В клетках некоторых растений синтезируются высокомолекулярные соединения, тормозящие процессы нуклеации и роста кристаллов льда. Эти соединения получили название биологических антифризов. Их биосинтез и экскреция в межклеточную среду являются ткане- и органоспецифическими. Антифризы можно выделить экстракцией из апопласта. Сведения об антифризной активности внутри клеток отсутствуют, поэтому считается, что они препятствуют внеклеточному образованию льда, особенно в тех органах и тканях, чьи клетки должны сохранить максимальное количество воды и находиться в переохлажденном состоянии. У зимующих растений антифризная активность обнаружена в клеточных стенках всех органов. Она меняется в зависимости от сезона и возрастает при акклимации растений к отрицательным температурам. В осенний период при закалке экскреция антифризов в межклеточную среду усиливается.

Известны антифризы белковой, гликопротеиновой и полисахаридной природы. У озимой ржи обнаружено шесть полипептидов с молекулярными массами 13, 19, 26, 32, 34 и 36 кДа, обладающих антифризной активностью. Из паслена горько-сладкого (Solarium dulcamara) выделен антифризный гликопротеин (молекулярная масса 67 кДа), содержащий в качестве углеводного компонента остатки галактозы. Из антифризов полисахаридной природы известны арабиноксиланы. Они выделены из клеточной стенки прошедшей закалку озимой ржи. Арабиноксиланы состоят из основных ксилановых цепей с боковыми цепями, образованными остатками арабинозы. Считается, что действие антифризов основано на наличии в их молекулах большого числа полярных группировок. В соответствии с гипотезой А. де Фриза, в гликопротеиновых антифризах полярные ОН-группы углеводных остатков образуют сплошной правильный фронт, располагаясь в одной плоскости вдоль линейной молекулы антифриза. Такая геометрия молекулы способствует ее сильному взаимодействию с молекулами H_2O в кристалле льда. За счет образующихся водородных связей молекула антифриза прочно адсорбируется на кристалле, что создает термодинамический барьер для присоединения к кристаллу новых молекул H2O. Таким образом осуществляется блокада роста кристаллов льда.

5.4. Роль сахаров, липидов и белков в адаптации растений.

Способствует повышению морозоустойчивости: накопление различных защитных веществ (криопротекторов) — сахаров, свободных аминокислот, солей органических и неорганических кислот. Криопротекторы, особенно сахара, понижают точку замерзания растворов в клетке, уменьшают объем образующегося льда, снижаютпотери воды цитоплазмой клетки, уменьшают количество свободной воды, способной пойти на льдообразование, а в случае его образования — смягчают его вредное воздействие на цитоплазму и мембраны клетки. Последнее свойство они приобретают при взаимодействии с белками, образуя сложные белки — гликопротеиды. Кроме того, доказано образование у морозоустойчивых растений термостойких изоферментов, в том числе различных изоформ АТФаз и других специфических белков. Все это вместе способствует морозоустойчивости растений. В природе устойчивость растений к морозам в течение года изменяется очень сильно. Летом морозоустойчивость наименьшая, зимой — наибольшая.

Это связано с тем, что зимой растения находятся в состоянии глубокого покоя, когда физиологические процессы сильно заторможены. Весной же способность растений выносить сильные морозы теряется, и их повреждают даже слабые морозы. Отсюда можно сделать вывод о том, что морозоустойчивость и активная жизнедеятельность и рост не совместимы.

5.5. Механизмы повышения морозоустойчивости при закалке.

Основа решения этой задачи — селекция морозоустойчивых сортов растений, хорошо адаптирующихся к климатическим условиям данного региона. Следует еще раз отметить, что процесс закаливания представляет собой временную адаптацию цитоплазмы, определяющую степень устойчивости к последующим повреждениям низкими температурами. Морозоустойчивость же формируется в соответствии с генотипом в процессе онтогенеза под влиянием определенных условий внешней среды и связана с наступлением периода покоя, его глубиной и длительностью.

Агротехника конкретного вида растений (срок и способ посева и др.) должна максимально способствовать формированию в процессе закалки реализации возможной генетически детерминированной морозоустойчивости сорта. В северных и центральных районах России с неустойчивой весной и частым возвращением весенних заморозков более устойчивы и урожайны сорта озимых хлебов и плодовых многолетних культур с более глубоким зимним покоем, с поздним сроком возобновления весенней вегетации (ВВВ). Наоборот, в районах с устойчивым нарастанием положительных температур весной преимущество имеют рановегетирующие виды и сорта растений.

Морозоустойчивость сортов озимой пшеницы определяется не только количеством Сахаров, накопленных с осени, но и их экономным расходованием в течение зимы. У растений зимостойких сортов озимой пшеницы в зимний период с понижением температуры содержание моносахаридов (глюкоза, фруктоза) увеличивается за счет расщепления сахарозы на глюкозу и фруктозу, что снижает точку замерзания клеточного сока. Узел кущения злаков, корневая шейка бобовых — своеобразная кладовая энергетических ресурсов растения в зимний период и орган побегообразования весной.

Морозоустойчивость растений озимой пшеницы положительно коррелирует с содержанием Сахаров в узлах кущения. В хороших посевах озимой пшеницы в листьях в декабре содержание растворимых углеводов достигает 18—24 % (на сухое вещество), а в узлах кущения — 39—42 %. В опытах более морозоустойчивый сорт озимой пшеницы Мироновская 808 расходовал за зиму всего 10 % углеводов, а менее устойчивый сорт

Безостая 1—23 % углеводов. Растения, закладывающие узлы кущения глубоко (3—4 см), как правило, более морозоустойчивы, чем те, у которых узел кущения находится близко к поверхности (1—2 см). Глубина залегания узла кущения и мощность его развития зависят от качества семян, способа посева, обработки почвы.

На морозоустойчивость существенное влияние оказывают условия почвенного питания, особенно в осенний период. Устойчивость растений к морозу возрастает на постоянно известкуемых почвах при внесении под посев озимых калийно-фосфорных удобрений, тогда как избыточные азотные удобрения, способствуя процессам роста, делают растения озимых более чувствительными к морозам. На морозоустойчивость, как и на холодостойкость растений, положительное влияние оказывают микроэлементы (кобальт, цинк, молибден, медь, ванадий и др.).

Например, цинк повышает содержание связанной воды, усиливает накопление Сахаров, молибден способствует увеличению содержания общего и белкового азота.

5.6. Возможные пути передачи низкотемпературного сигнала.

С увеличением температуры скорости ферментативных реакций возрастают. Зависимость скорости реакции от температуры носит экспоненциальный характер, что описывается уравнением Аррениуса:

$$\kappa = Ae^{-E_a/RT} \qquad (8.3)$$

где κ — константа скорости реакции; E_a — энергия активации реакции; R — газовая постоянная; T— абсолютная температура; A — коэффициент пропорциональности.

Из уравнения (8.3) следует, что энергия активации наряду с температурой определяет скорость реакции. Скорость реакции тем выше, чем ниже энергия активации. Функция ферментов состоит в снижении энергии активации ферментативных реакций. Чем выше эффективность фермента, тем до более низкого значения снижается энергия активации.

У эктотермных организмов, обитающих при пониженных температурах, ферменты характеризуются более эффективным катализом, т. е. более низкими значениями энергия активации реакций. У эктотермных организмов, обитающих в условиях теплого климата, наоборот, ферменты менее эффективны, т. е. энергия активации катализируемых ими реакций имеет более высокие значения.

Энергии активации ферментативных реакций изменяются также при акклимации организмов к новым температурным условиям: при понижении температуры они снижаются, а при повышении возрастают. Таким образом, энергия активации той или иной ферментативной реакции не является величиной постоянной: она изменяется в соответствии с температурными условиями среды обитания. Это положение получило обоснование при изучении каталитических свойств ферментов, выделенных из холодоустойчивых и теплолюбивых организмов, а также организмов, акклимированных к различным температурам.

Изменения каталитических свойств ферментов, т. е. их энергий активации, являются одним из важнейших типов приспособительных реакций организмов к изменяющимся температурным условиям и происходят в результате модификаций молекул ферментов.

Конформационные изменения фермента в ходе каталитической реакции сопровождаются разрывом или образованием слабых связей (водородных, электростатических, ван-дер-ваальсовых и гидрофобных), при этом освобождается или поглощается энергия. Энергетические сдвиги, связанные с изменением конформации, лежат в основе различий в величинах энергий активации ферментативных реакций.

Для конформационных изменений ферментов с более гибкой структурой при катализе требуется меньше энергии. У фермента с жесткой структурой конформационные изменения невозможны. Он был бы стабильным и долговечным, но нереакционноспособным. Фермент может сохранять свою структурную целостность и в то же время функционировать, когда между его стабильностью и гибкостью существует

равновесие. Ферменты организмов, приспособленных к высоким температурам, для сохранения структурной целостности и функциональной активности должны иметь более жесткую структуру. Для ферментов организмов, приспособленных к низким температурам, необходима повышенная гибкость.

Стратегия приспособления к тому или иному температурному диапазону состоит в изменении числа (или типа) слабых взаимодействий в молекуле фермента. Приспособление к более высоким температурам связано с приобретением одной или нескольких дополнительных слабых связей. Дополнительные связи повышают термостабильность белка и в то же время снижают его каталитическую эффективность (увеличивают энергию активации). Разновидности ферментов, осуществляющих эффективный катализ при изменении температурных условий, появляются в результате модификаций их первичной структуры.

Другим типом приспособительных реакций растений к изменяющимся температурным условиям является поддержание относительно постоянного соотношения между константой Михаэлиса (K_m) и концентрацией субстрата [S]. Константа Михаэлиса для субстрата должна поддерживаться в пределах, приблизительно соответствующих середине диапазона физиологических концентраций субстрата. При таком соотношении K_m и [S] используется значительная часть каталитического потенциала фермента, и в то же время фермент далек от состояния насыщения субстратом, т.е. сохраняет резерв для ускорения реакции в ответ на повышение концентрации субстрата или регуляторные сигналы.

Как показали эксперименты на выделенных ферментах, изменения температуры приводят к изменениям K_m. Константа Михаэлиса растет при повышении температуры. Вместе с тем и у растительных, и у животных организмов, обитающих при различных температурных условиях, K_m ферментов и концентрации их субстратов в клетках различаются очень мало. Относительное постоянство K_m и [S] поддерживается и при акклимации организма к изменившейся температуре.

Известно два пути поддержания постоянства K_m: 1) за счет изменений первичной структуры белка; 2) за счет изменения среды, в которой фермент функционирует.

Изменения первичной структуры белка, приводящие к изменениям E_a и K_m, могут происходить в эволюционном масштабе времени и приводить к появлению новых форм белка и соответственно новых конститутивных признаков (адаптация). Новые разновидности фермента с кинетическими свойствами, отвечающими новым температурным условиям, могут появляться также в результате индукции стрессовых генов при акклимации растения к температурному сдвигу. Они могут появляться даже тогда, когда температура среды колеблется в пределах всего лишь 6 — 8 °С. Поскольку многие растения обитают в средах, где сезонные и даже суточные колебания температуры превышают 6 —8 °С, фермент, представленный только одной формой, не мог бы функционировать во всем диапазоне температур. Нужны две или больше разновидности фермента. Такие разновидности называются *изоферментами.* Изоцитратдегидрогеназа, например, существует в виде целого семейства изоферментов, каждый из которых функционирует в узком температурном диапазоне. Известна сезонность в появлении множественности форм ферментов.

Поддержание относительно постоянного отношения K_m/[S] часто связано с изменением pH среды, в которой фермент функционирует. Хорошо известно, что при повышении температуры в клетках растений снижается pH цитоплазмы. У ряда ферментов это компенсирует изменения K_m, индуцированные температурными сдвигами.

5.7. Генетический контроль морозоустойчивости.35

Растения в целом являются эктотермными организмами, тем не менее у холодоустойчивых растений отдельные ткани и органы способны к терморегуляции.

Исследования процесса дыхания свидетельствуют о наличии у них термогенеза, т. е. производства тепла.

При снижении температуры у холодоустойчивых растений повышается уровень дыхательного газообмена при одновременном разобщении транспорта электронов и фосфорилирования. У растений, чувствительных к холоду, реакция дыхания на низкие температуры иная: скорость дыхательного газообмена понижается, тогда как дыхательный контроль остается на прежнем уровне или даже возрастает, указывая на поддержание высокого уровня сопряжения переноса электронов и фосфорилирования. Переход митохондрий в низкоэнергетическое состояние у толерантных растений связан с необходимостью выработки тепла. Разобщение переноса электронов и фосфорилирования происходит за счет повышения содержания в митохондриях свободных жирных кислот. Они увеличивают проводимость внутренней мембраны митохондрий для H^+, что приводит к диссипации протонного градиента, который генерируется при окислении дыхательных субстратов. Аналогичные процессы происходят в митохондриях бурой жировой ткани у адаптированных к холоду, а также впадающих в зимнюю спячку животных. В этой ткани энергия химических связей дыхательных субстратов используется только для теплопродукции. Через имеющийся в цепи синтеза АТФ шунт протоны транспортируются через мембрану в обход АТФ-синтазы. У растений к эндогенным разобщающим агентам, участвующим в выработке тепла, относятся также некоторые белки.

Одним из способов превратить энергию химических связей дыхательных субстратов в тепло является переключение дыхательного пути с цитохромного на альтернативный *цианидрезистентный путь,* который ответвляется от цитохромного пути на уровне убихинона. Цианидрезистентный путь не связан с генерацией трансмембранного градиента электрохимического потенциала протонов ($\Delta\bar{\mu}_{H^+}$) и, следовательно, с синтезом АТФ, но его включение приводит к термогенезу. Альтернативный путь дыхания, по-видимому, имеется у всех растений, но его доля особенно велика в тех организмах, органах и тканях, которые осуществляют теплопродукцию. Выделение тепла свойственно в большей степени генеративным органам. Теплопродукция была зарегистрирована у цветков симплокарпуса *(Symplocarpus foetidus)*, филодендрона *(Philodendron selloum),* ароника *(Arum maculatum)* и многих других растений.

Теплопродукция при замораживании

Превращение воды в лед является экзотермическим процессом, поэтому замерзание межклеточной жидкости сопровождается локальным повышением температуры. На этом основана приспособительная стратегия к резким суточным колебаниям температуры воздуха у некоторых растений рода лобелия *(Lobelia telekii и L. deckenii).* Они обитают в горах, где ночью температура воздуха опускается до -10 °С, тогда как днем температуры плюсовые. Днем растения должны активно метаболизировать, а ночью необходима толерантность к замораживанию. Суточную терморегуляцию у этих растений обеспечивает большая межклеточная полость в соцветии, которая содержит раствор полисахаридов и других карбогидратов. Растворенные вещества выполняют функцию гетерогенных нуклеаторов. Лед образуется в полости при близких к 0 °С отрицательных температурах. Выделяющееся при этом тепло обогревает соцветие. При колебаниях наружной температуры в диапазоне от -8° до +12 °С температура соцветия не опускается ниже 0 °С. Такая же стратегия обнаружена у некоторых видов опунций, например у *Opuntia humifusa* и *O.ficusindica.* Эти растения обитают в пустынях, тем не менее выдерживают снижение температуры до -10 °С. В их межклетниках находится вязкая жидкость, содержащая полисахариды, масса которых достигает 45 % в расчете на сухую массу ткани. Полисахариды выступают в роли гетерогенных нуклеаторов.

Вопросы для самоконтроля

1. Условия и причины вымерзания растений.

2. Повреждение растений при действии морозов.
3. Адаптация растений к действию отрицательных температур.
4. Закаливание. Изменения, происходящие в растительном организме в ходе закалки.
5. Химическая природа биологических антифризов.
6. Роль сахаров, липидов и белков в адаптации растений.
7. Механизмы повышения морозоустойчивости при закалке.
8. Возможные пути передачи низкотемпературного сигнала.
9. Генетический контроль морозоустойчивости.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

а) основная литература (библиотека СГАУ)

1. **Кошкин, Е. И.** Физиология устойчивости сельскохозяйственных культур : учебник / Е. И. Кошкин. - М. : Дрофа, 2010. - 638 с. : ил. - (Учебники и учеб. пособия для студентов высш. учеб. заведений). - ISBN 978-5-358-07798-0

2. Физиология и биохимия сельскохозяйственных растений : учебник / Н. Н. Третьяков [и др.]; ред. Н. Н. Третьяков. - М.: КолосС, 2005. - 656 с. : ил. - (Учебники и учеб. пособия для студентов высш. учеб. заведений). - ISBN 5-9532-0185-0

б) дополнительная литература

1. Биохимия: учебник / В. Г. Щербаков, В. Г. Лобанов, Т. Н. Прудникова. - 3-е изд., испр. и доп. - СПб. : ГИОРД, 2009. - 472 с. : ил. - ISBN 5-98879-008-9

2. **Козьмина, Н. П.** Зерноведение с основами биохимии растений : научное издание / Н. П. Козьмина, В. А. Гунькин, Г. М. Суслянок. - М. : Колос, 2006. - 464 с.: ил. - (Теоретические основы прогрессивных технологий: биотехнология). - ISBN 5-10-0039.

3. Основы биохимии: практикум / ФГОУ ВПО СГАУ, Факультет защиты растений и агроэкологии ; сост. С. В. Душехватов. - Саратов: ФГОУ ВПО "Саратовский ГАУ", 2009. - 80 с.

4. Физиология растений с основами экологии: учебное пособие / И. В. Сергеева, А. И. Перетятко. - Саратов: ФГБОУ ВПО "Саратовский ГАУ", 2011. - 344 с.: ил. - ISBN 978-5-7011-0740-1

Лекция 6.

ДЕЙСТВИЕ ДЕФИЦИТА ВОДЫ И ЗАСУХОУСТОЙЧИВОСТЬ.

6.1. Эффективность использования воды растениями.

Растения испытывают водный дефицит, когда скорость транспирации превосходит скорость поглощения воды корневой системой. Такая ситуация возникает не только при засухе, но и в условиях почвенного засоления, а также при низких температурах. В двух последних случаях дегидратация является компонентом стрессов «неводной» природы и развивается в растениях, когда количество воды в почве чаще всего не ограничено, однако эта вода недоступна для растения. Например, при почвенном засолении вода не поглощается корневой системой из-за высокого осмотического давления (низкого водного потенциала) почвенного раствора.

Снижение содержания воды в клетках при водном дефиците и сопутствующее обезвоживанию увеличение концентрации ионов в цитоплазме вызывают различного рода нарушения в структуре и функциях биополимеров, в частности происходит денатурация белков и подавляется их ферментативная активность, изменяется структура липидного бислоя мембран и нарушается их целостность. Деструктивные изменения в мембранах в свою очередь приводят к нарушению внутриклеточной компартментации веществ и подавлению электрогенеза. На клеточном уровне водный дефицит выражается в потере тургора. На уровне целого растения водный дефицит часто проявляется в обращении градиента водного потенциала в системе почва — корень — побег и ингибировании роста. Способность растения адекватно отвечать на водный дефицит и выживать в условиях водного дефицита зависит от эффективности защитных механизмов растения. Некоторые ответные реакции растения на водный дефицит могут наблюдаться уже через несколько секунд после начала действия стрессора. К ним относятся, например, изменения в фосфорилировании белков. Другие ответы требуют более длительного времени — от нескольких минут до нескольких часов, как в случае изменений в экспрессии генов.

В результате индукции механизмов устойчивости к водному дефициту растение становится способным пережить действие стрессора. Развитие устойчивости может быть результатом индукции как механизмов избежания, так и механизмов резистентности. Обе категории реакций, вовлеченные в процесс акклимации растений к водному дефициту, более детально рассмотрены ниже.

6.2. Понижение водного потенциала растительных клеток как стратегия избежания обезвоживания.

Вода движется пассивно по градиенту водного потенциала $\Delta\psi$ из области, где водный потенциал выше, в прилегающую область, где он ниже.

Растение не может извлекать воду из почвы, если водный потенциал клеток корня $\psi^{кл}$ выше водного потенциала почвы $\psi^{ср}$. Для того чтобы вода пердвигалась из почвы в клетки корня, $\psi^{кл}$ должен быть доведен до более низкого уровня, чем $\psi^{ср}$. Некоторые растения высокочувствительны к водному дефициту и завядают (теряют тур гор), когда $\psi^{ср}$ становится слишком низким. Другие могут переносить засуху или высокие концентрации соли в почвенном растворе без очевидной потери тургора. Клетки засухоустойчивых и солеустойчивых растений способны снижать свой водный потенциал за счет повышения внутриклеточного осмотического давления $\pi^{кл}$ — процесса, получившего название *осморегуляции.* Повышение $\pi^{кл}$ осуществляется за счет увеличения суммарной концентрации осмотически активных веществ в клетках. Достигаемые при этом внутриклеточные осмолярности превосходят те, которые получаются в результате

пассивного концентрирования веществ при дегидратации. Благодаря повышению $\pi^{кл}$ вода поступает в корни по градиенту водного потенциала. Процесс осморегуляции играет важнейшую роль в акклимации растений к засухе и почвенному засолению.

Так как осмотическое давление является функцией общего числа частиц, растворенных в данном объеме, в повышении $\pi^{кл}$ участвуют как низкомолекулярные органические соединения, так и неорганические ионы. Регуляция осмотического давления в цитоплазме клеток при водном и солевом стрессах осуществляется преимущественно за счет биосинтеза низкомолекулярных органических соединений, которые получили название *осмолитов,* тогда как в вакуолярном компартменте главную роль в регуляции осмотического давления играет аккумуляция неорганических ионов.

6.3. Свойства и функции осмолитов.

Осмолиты образуют сравнительно небольшую группу химически разнообразных низко молекулярных органических соединений. Они хорошо растворимы в воде, нетоксичны и в отличие от неорганических ионов не вызывают изменений в метаболизме, отчего и получили свое второе название *совместимых веществ* (compatible solutes). Синтез и накопление осмолитов органической природы в цитоплазме клеток — широко распространенное явление в растительном мире, однако в распределении разных осмолитов по видам растений наблюдаются значительные вариации. У совместимых веществ существует тенденция быть нейтральными при физиологических значениях pH. В цитоплазме они находятся в недиссоциированной форме либо в форме цвиттерионов, т. е. молекул, несущих положительный и отрицательный заряды, которые пространственно разделены. Некоторые осмолиты являются амфифильными соединениями. Молекулы амфифильных веществ несут как неполярные (гидрофобные), так и полярные (гидрофильные) группы. К осмолитам относятся также некоторые полигидроксильные соединения.

Общая функция осмолитов — участие в процессе *осморегуляции.* Многие неорганические ионы, такие, например, как Na^+ и Cl^-, в высоких концентрациях токсичны, поэтому не могут быть использованы растительной клеткой в регуляции осмотического давления цитоплазмы. В то же время совместимые с биополимерами осмолиты могут аккумулироваться в цитоплазме до концентраций в несколько сот микромоль на грамм без видимых токсических эффектов. Вследствие этого именно осмолиты, а не неорганические ионы клетка использует для регуляции осмотического давления цитоплазмы. Роль осмолитов особенно важна в условиях засухи и засоления, когда необходимо сконцентрировать в клетках осмотически активные вещества. Различия растений по устойчивости к дегидратации связаны со степенью эффективности у них систем биосинтеза осмолитов. Ксерофиты и галофиты — растения, обитающие соответственно при низком содержании влаги в среде и на засоленных почвах, синтезируют осмолиты с более высокой скоростью и аккумулируют их в клетках до более высоких концентраций по сравнению с растениями, обитающими в условиях нелимитированного водоснабжения и при отсутствии почвенного засоления.

В вакуолях, которые занимают приблизительно 90 % объема созревших клеток, осморегуляция осуществляется в основном путем аккумуляции неорганических ионов — K^+, Na^+ и Cl^-. За счет осмолитов достигается осмотическое равновесие цитозоля с вакуолями и всеми остальными органеллами клетки.

Наряду с осморегуляцией совместимые вещества выполняют еще одну, очень важную при дегидратации функцию. Эта функция может быть определена как *защитная (протекторная)* по отношению к цитоплазматическим биополимерам. Подчеркивая двойную функциональную роль осмолитов, их часто называют *осмопротекторами.* К настоящему времени накопилось много экспериментальных фактов, свидетельствующих

об их защитных свойствах. Следует, однако, отметить, что доказательства защитного действия совместимых веществ получены в основном в экспериментах *in vitro.* Например, на препаратах из листьев растений показано, что *глицин-бетаин* предотвращает NaCl-индуцированную инактивацию рибулозобисфосфаткарбоксилазы и дестабилизацию выделяющего O_2 комплекса фотосистемы II.

Считается, что осмолиты не разрушают гидратные оболочки биополимеров. На рис. 8.3 показана гидратная оболочка белка, состоящая из упорядоченных молекул воды. Ионы, например Na^+ и Cl^-, могут проникать через гидратную оболочку и влиять на нековалентные связи, которые поддерживают структуру белковой молекулы. В отличие от Na^+ и Cl^- осмолиты, такие, как *пролин* и *глицин-бетаин,* не проникают через гидратную оболочку и не вступают в прямой контакт с белком, но создают препятствие для разрушения ионами гидратной оболочки белка и его денатурации.

Некоторые низкомолекулярныё органические соединения, синтез которых индуцируется стрессорным воздействием, образуются в клетках в количествах, явно недостаточных для выполнения осморегуляторной функции. Тем не менее они играют важную роль при стрессах как *протекторы биополимеров.* К таким соединениям относятся *диамин путресцин* и образующиеся из него *полиамины спермидин* и *спермин*. Полиамины широко распространены в растениях. Они стимулируют реакции, вовлеченные в синтез ДНК, РНК и белков. Как поликатионы, полиамины обладают высоким сродством к биомолекулам, несущим отрицательные заряды, в частности к ДНК, РНК, фосфолипидам и кислым белкам, а также к анионным группам компонентов мембран и клеточных стенок. В растениях полиамины вовлечены во многие физиологические процессы, включая клеточное деление, формирование цитоскелета, инициацию роста корней, эмбриогенез и созревание плодов.

Полиамины предотвращают повреждения биомолекул, вызываемые засухой, засолением, низкими температурами и озоном. Структуры ДНК, РНК, рибосом, а также мембран, находящихся в комплексе с полиаминами, стабилизируются. Снижая активности РНКаз и протеаз, увеличенные в стрессовых условиях, полиамины повышают точность считывания информации при синтезе белков и тормозят лизис клеточных структур.

Механизм стабилизирующего действия полиаминов может быть рассмотрен на примере ДНК, являющейся сильной многоосновной кислотой. Она полностью ионизирована при pH выше 4. При цитоплазматических значениях pH отрицательно заряженные фосфатные группы, расположенные на периферии двойной спирали, образуют ионные связи с положительно заряженными аминогруппами спермидина и спермина, что предохраняет ДНК от повреждений.

Биосинтез некоторых наиболее распространенных осмолитов

Пролин. Осмолит пролин широко распространен в растениях. Эта аминокислота может синтезироваться двумя путями, в которых исходным веществом для синтеза является либо глутамат, либо орнитин. Ключевой фермент *глутаматзависимого пути* синтетаза Δ'-пирролин-5-карбоновой кислоты обладает двойной функцией. Сначала благодаря свойственной этому ферменту γ-глутамилкиназной активности происходит АТФ-зависимое фосфорилирование L-глутамата. Образующийся L-глутамил- γ -фосфат превращается далее в γ -полуальдегид глутаминовой кислоты (ПАГ) с помощью этого же фермента, функционирующего как НАДФН-зависимая ПАГ-дегидрогеназа. Далее ПАГ подвергается спонтанной циклизации с образованием Δ'-пирролин-5-карбоновой кислоты (П5К), восстанавливающейся затем до пролина при участии НАДФН-зависимой П5К-редуктазы.

Глицин-бетаин образуется в клетках многих водорослей и высших растений. Метаболический путь биосинтеза глицин-бетаина обнаружен у всех исследованных представителей семейства маревые (Chenopodiaceae), однако в клетках растений других семейств глицин-бетаин синтезируется лишь у отдельных видов.

В отличие от пролина и других осмолитов, внутриклеточные концентрации которых регулируются путем баланса скоростей их синтеза и катаболизма, однажды образовавшийся глицин-бетаин не подвергается катаболическим превращениям. Считается, что внутриклеточные концентрации глицин-бетаина зависят от скорости его биосинтеза и скорости оттока через флоэму к растущим тканям.

Глицин-бетаин образуется в хлоропластах из холина. Процесс протекает в две стадии (рис. 8.5). Первый фермент, *холинмонооксигеназа,* катализирует окисление холина до бетаинальдегида, используя фотосинтетически восстановленный ферредоксин и молекулярный кислород. Второй фермент, *бетаинальдегиддегидрогеназа,* катализирует окисление бетаинальдегида до глицин-бетаина. Оба фермента выделены, очищены и получены клоны их кДНК. Как показали эксперименты с мечеными предшественниками глицин-бетаина, активность обоих ферментов увеличивается в несколько раз при повышении осмотического давления наружного раствора, при этом возрастают количества их транскриптов. При последующем снабжении растений пресной водой содержание транскриптов снижается.

Маннитол. Многоатомный спирт маннитол представляет собой восстановленную форму сахара маннозы. Он встречается у многих растений, а у некоторых из них на его долю приходится большая часть всех углеводов, образующихся при фотосинтезе. Концентрации маннитола возрастают в клетках в ответ на гиперосмотический шок. В отличие от глицин-бетаина содержание маннитола в клетках регулируется не только скоростью его биосинтеза, но и активностью ферментов, которые отвечают за утилизацию маннитола, а также ферментов, осуществляющих его катаболизм. Например, у злаков осмотический шок приводит к снижению активности $НАД^+$-зависимой маннитолдегидрогеназы — фермента, окисляющего маннитол.

Пинитол. D-пинитол — циклический многоатомный спирт, основной осмолит многих растений семейств сосновые (Pinaceae), бобовые (Leguminosae) и гвоздичные (Caryophyllaceae). Концентрации пинитола, как правило, более высоки у видов, адаптированных к засухе и почвенному засолению. Пинитол накапливается в клетках факультативного галофита хрустальной травки *(Mesembryanthemum crystallinum)*, если растение поливают раствором, содержащим NaCl. При поливе раствором NaCl в концентрации 400 мМ доля пинитола в клетках *M. crystallinum* достигает 70 % от всех растворимых карбогидратов и лишь 5 % — в клетках контрольных растений, не обработанных NaCl. В клетках пинитол локализован в хлоропластах и цитозоле, но не обнаруживается в вакуолях.

Пинитол образуется из глюкозо-6-фосфата (рис. 8.7). Главное событие в цепи реакций биосинтеза пинитола — *о*-метилирование миоинозитола, которое осуществляется

миоинозитол-6-*о*-метилтрансферазой. В этой реакции донором метильной группы служит S-аденозилметионин. Образующийся ононитол подвергается далее эпимеризации с образованием пинитола.

Полиамины спермидин и спермин. Предшественником спермидина и спермина является диамин путресцин, образующийся из аминокислоты орнитина. (рис. 8.8). Спермидин образуется в результате конденсации молекулы путрес-цина и пропиламинного остатка декарбоксилированного S-аденозилметиони-на. Реакция осуществляется с помощью спермидинсинтазы за счет богатой энергией метил-сульфониевой связи декарбоксилированного S-аденозилметионина. Другой фермент, сперминсинтаза, переносит на спермидин еще один пропиламинный остаток декарбоксилированного S-аденозилметионина с образованием спермина.

6.4. Белки, образующиеся в клетках растений при дегидратации.

В формирование механизмов устойчивости растений к водному дефициту вовлечены белки, выполняющие различные функции. Многие из них синтезируются de novo как ответная реакция растения на дегидратацию.

Lea-белки. Часть индуцируемых водным дефицитом белков защищает цитоплазматические биополимеры и формируемые ими клеточные структуры от повреждений, вызываемых дегидратацией. К ним относятся Lea (late embryogenesis abundant)-белки, которые сначала были идентифицированы как продукты генов LEA, экспрессирующихся в семенах в фазе их созревания и высушивания. Позже некоторые Lea-белки были обнаружены в вегетативных тканях растений в период потери ими воды при водном, солевом и низкотемпературном стрессах.

Lea-белки в подавляющем большинстве гидрофильны, что согласуется с их цитоплазматической локализацией. Многие из них обогащены аланином и глицином и лишены цистеина и триптофана. Lea-белки в соответствии с их аминокислотными последовательностями и структурой объединяют в пять групп (1 — 5). Существуют предположения о специфических функциях белков каждой группы. Lea-белки группы 1 характеризуются высоким содержанием заряженных аминокислот и глицина, что позволяет им эффективно связывать воду. Наличие Lea-белков этой группы в цитоплазме придает ей высокую водоудерживающую способность.

Предполагается, что Lea-белки группы 2 выполняют функции шаперонов. Образуя комплексы с другими белками, они предохраняют последние от повреждений в условиях дегидратации клетки. Некоторые Lea-белки (группы 3 и 5) участвуют в связывании ионов, которые концентрируются в цитоплазме при потере клетками воды. Наличие гидрофобной области у этих белков приводит к формированию гомодимера с гидрофобными последовательностями, обращенными друг к другу, тогда как заряженные области на наружных поверхностях белка участвуют в связывании ионов. Lea-белки группы 4 могут замещать воду в примембранной области и этим поддерживать структуру мембран при дегидратации. Lea белки играют важную роль в устойчивости растений к водному дефициту. На ряде видов растений показана корреляция между выживаемостью при водном дефиците и накоплением в их клетках Lea-белков. Например, сверхэкспрессия генов, кодирующих Lea-белки в трансформантах риса *(Oryza sativa),* коррелировала с высокой устойчивостью растений к водному дефициту.

Шапероны и ингибиторы протеаз. *Шаперонами* называют белки, которые связывают полипептиды во время их *сворачивания* (folding), т.е. при формирования третичной структуры, и сборки белковой молекулы из субъединиц, т. е. при формировании четвертичной структуры. Взаимодействуя с полипептидами, шапероны предотвращают ошибки в сворачивании и сборке и этим препятствуют аггрегации полипептидных цепей. Некоторые шапероны играют роль «ремонтных станций», исправляющих неверное сворачивание. Одна из главных функций шаперонов — сворачивание и *разворачивание* (unfolding), а также сборка и разборка белков при их транспорте через мембраны. Полипептидная цепь может пройти через пору в мембране лишь в развернутом виде. Некоторые содержащиеся в цитозоле шапероны взаимодействуют с вновь синтезированными полипептидными цепями и поддерживают их линейную структуру, так что полипептидные цепи могут сразу транспортироваться в нужный компартмент клетки. Другие шапероны связываются с аминокислотами полипептидной цепи, как только она покажется на другой стороне мембраны, и осуществляют сворачивание. При дегидратации клеток тенденция к повреждениям и денатурации белков усиливается, поэтому защитная роль шаперонов в этих условиях возрастает. Стрессовые условия активируют биосинтез шаперонов в клетках.

При осмотическом стрессе происходит также индукция биосинтеза ингибиторов протеаз, препятствующих протеолитическому расщеплению белков, которые при дегидратации клетки сохраняют свою структуру и функциональные свойства.

Протеазы и убиквитины. При обезвоживании клеток, несмотря на действие протекторных соединений и шаперонов, часть клеточных белков подвергается денатурации. Денатурированные белки должны быть гидролизованы. Эту функцию выполняют протеазы и убиквитины, экспрессия генов которых также индуцируется стрессовыми условиями. Убиквитины представляют собой низкомолекулярные (8,5 кДа) высококонсервативные белки. Присоединяясь к N-концу денатурированного белка, они делают белок доступным для действия протеаз. Таким путем осуществляется селективная деградация *денатурированных* белков.

Аквапорины. Трансмембранное движение воды происходит в основном через водные каналы, образованные белками аквапоринами. За счет изменения числа водных каналов в мембране и их проводимости осуществляется быстрая регуляция трансмембранных потоков воды, это особенно

важно при водном дефиците. Показано, что поглощение воды клетками в ответ на увеличение внутриклеточных концентраций осмолитов, сопровождающееся восстановлением ОСВ и тургора при засухе, происходит через водные каналы. В *A. thaliana* водный дефицит индуцировал экспрессию гена RD28, который кодирует аквапорин, локализованный в плазматической мембране. Гены, кодирующие аквапорины, идентифицированы в *M. crystallinum.* Показано, что количество транскриптов этих генов коррелирует с тургорным давлением в клетках листьев *M. crystallinum* при действии на растение соли в высоких концентрациях. После обработки растений хлористым натрием число транскрипов в период снижения тургорного давления уменьшалось. В последующем оно увеличивалось по мере того, как в клетках накапливались осмолиты и восстанавливался тургор. Возросшая концентрация транскриптов в клетках активировала трансляцию. Увеличение содержания аквапоринов в мембране и их последующая активация приводили к возрастанию водной проводимости ПМ и, соответственно, к увеличению потока воды в клетку в период восстановления тургора. Во время засухи содержание аквапоринов возрастает не только в ПМ, но и в тонопласте. Это способствует увеличению водной проводимости тоноп-ласта, что также, по-видимому, необходимо для восстановления ОСВ и тургорного давления.

Изменение активности уже существующих в мембране водных каналов играет важную роль в регуляции водной проводимости мембран при стрессах. Одним из механизмов такой регуляции является фосфорилирование и дефосфорилирование аквапоринов. Фосфорилирование приводит к активации, а дефосфорилирование соответственно к снижению активности водных каналов.

6.5. Защитные и регуляторные функции белков, индуцируемых водным дефицитом.

Из множества белков, появление которых в клетках растений вызвано водным дефицитом, одни вовлечены в формирование механизмов устойчивости непосредственно, тогда как другие участвуют в регуляции экспрессии генов, индуцируемых стрессором. В соответствии с этим гены, экспрессируемые в растениях при водном стрессе, подразделяют на *функциональные* и *регуляторные.* Первая группа включает гены, которые отвечают непосредственно за формирование механизмов устойчивости, т.е. биосинтез аквапоринов, образующих водные каналы, ферментов, требующихся для биосинтеза осмолитов (пролина, глицин-бетаина, многоатомных спиртов и др.), белков, которые защищают макромолекулы и мембраны (Lea-белков, шаперонов и др.), протеаз и убиквитинов, ускоряющих белковый обмен в стрессовых условиях, а также ферментов,

участвующих в детоксикации (супероксиддисмутаза, аскорбатпероксидаза, глутатион-Б-трансфераза и др.

Вторая группа содержит гены белков, которые участвуют в передаче сигнала при экспрессии других генов, формирующих механизмы устойчивости, таких, например, как гены протеинкиназ, фосфолипазы С и 14-3-3-белков. К этой группе относятся гены транскрипционных факторов, которые «узнают» ДНК-элементы в генах, экспрессируемых при стрессе.

6.6. Регуляция экспрессии генов, индуцируемых водным дефицитом.

Рецепция сигнала. Первым этапом в регуляции экспрессии генов при водном дефиците является рецепция сигнала. Воспринятый клеткой сигнал приводит к включению систем сигнальной трансдукции и активированию белков, образующих цепь передачи сигнала. Имеются данные, свидетельствующие о том, что у растений рецепция сигнала при водном стрессе осуществляется аналогично тому, как это происходит у *E. coli* и дрожжей. У этих организмов восприятие изменений осмотического давления наружной среды совершается с помощью сенсорной системы, состоящей из локализованного в мембране *осмосенсора (сенсорной киназы)* и находящегося в цитоплазме *регулятора ответа*.

Эта система воспринимает изменения в натяжении ПМ при водном дефиците. В ПМ дрожжей осмосенсор, трансмембранный белок Slu 1 р, при высокой осмолярности среды активируется путем автофосфорилирования, приводя затем к последовательному фосфорилированию белков цитоплазмы Ypd 1 и Ssk 1 р, которые образуют регулятор ответа.

МАР-киназный каскад. У дрожжей фосфорилированный белок Ssklp активирует различные пути передачи сигнала, в частности MAP (mitogen activated protein)-киназный каскад, состоящий из трех последовательно фосфорилируе-мых в присутствии АТФ протеинкиназ: Ssk 2 р (MAPKKK) — МАРКК-киназы, Pbs 2 р (МАРКК) — МАРК-киназы и Hog 1 р (МАРК) — МАР-киназы (рис. 8.11).

Активированная фосфорилированием МАР-киназа индуцирует экспрессию многих генов дрожжевой клетки при водном и солевом стрессах, в частности генов, кодирующих ферменты биосинтеза глицерина — главного осмолита у дрожжей. Гомологи некоторых компонентов МАР-киназного каскада дрожжевых клеток обнаружены у растений. Экспрессия генов этих компонен- тов индуцируется стрессовыми условиями. В частности, у *A. thaliana* ген МАР-киназы (АТМРКЗ) и ген МАРККК (АТМЕКК1) индуцируются засухой, низкими температурами и высокими концентрациями соли.

Вторичные мессенджеры. В регуляции тургорного давления растительной клетки участвуют вторичные мессенджеры (рис. 8.12). Локализованный в мембране фосфатидилинозитол-4,5-дифосфат расщепляется активируемой при осмотическом стрессе фосфолипазой С, освобождая вторичный мессенджер инозитол-1,4,5-трифосфат. Последний индуцирует выход Ca^{2+}, другого вторичного мессенджера, из вакуоли и эндоплазматического ретикулума в цитозоль и соответственно концентрация Ca^{2+} в нем возрастает. Концентрация Ca^{2+} в цитозоле может увеличиваится также за счет его поступления в клетку через потенциалзависимые Ca^{2+}-каналы плазмалеммы при индуцируемой стрессором деполяризации этой мембраны. Возросшие концентрации Ca^{2+} активируют Ca^{2+}/кальмодулинзависимые протеинкиназы (CDPK), что в свою очередь стимулирует биосинтез стрессовых белков.

АБК-зависимые и АБК-независимые гены. Важную роль в регуляции экспрессии генов при осмотическом стрессе играет гормон АБК. Экспрессия многих генов в условиях засухи, засоления или низких температур требует предварительного накопления в тканях эндогенной АБК, тогда как экспрессия других генов происходит без участия АБК. На основании этого и анализа действия АБК на экспрессию индуцируемых водным

дефицитом генов в АБК-дефицитном *(aba)* и АБК-нечувствительном *(abi)* мутантах *A. thaliana* был сделан вывод, что существуют АБК-зависимые и АБК-независимые пути передачи сигнала в ответной реакции растений на водный дефицит.

Несколько транскрипционных факторов и специфических нуклеотидных последовательностей в генах идентифицированы для обоих путей. АБК-индуцируемые гены содержат в промоторной области специфическую последовательность нуклеотидов, получившую сокращенное название ABRE (ABA-responsive element). ABRE функционирует как *цис*-элемент ДНК, вовлеченный в АБК-регулируемую экспрессию генов. Такого рода элемент был сначала идентифицирован в Em-гене пшеницы *(Triticum aestivum),* а затем обнаружен в

АБК-индуцируемых генах кукурузы *(Zea mays),* ячменя, риса, табака и арабидопсиса. Для индукции экспрессии генов необходимо, чтобы ABRE связался с белком EmBPl. В большинстве случаев ABRE достаточен для АБК-регулируемой экспрессии генов, но в некоторых генах ABRE ассоциирован с еще одной нуклеотидной последовательностью, которая называется сопрягающим элементом (СЕ). Например, в гене HVA22 ячменя сопрягающий элемент СЕ1 требуется для экспрессии наряду с ABRE. Для экспрессии таких генов требуется еще один ДНК-связывающий белок, специфичный к СЕ, — СЕВР (coupling element binding protein). ABRE, СЕ и оба белка ЕmВР1 и СЕВР образуют комплекс, индуцирующий экспрессию АБК-зависимого гена. Однако до настоящего времени не ясно, как АБК активирует ЕmВР1, вызывая его последующее взаимодействие с ABRE и инициацию транскрипции. В ряде генов, регулируемых с участием АБК, обнаружены другие *цис*-элементы, отличающиеся от ABRE. Индукция таких генов происходит при специфическом связывании этими элементами транскрипционных факторов MYC и MYB.

Промоторная область АБК-независимых генов содержит последовательность нуклеотидов DRE (drought-responsive element). DRE вовлечен в регуляцию генов, индуцируемых непосредственно водным дефицитом и не требующих АБК для экспрессии. Транскрипционные факторы для таких генов — DRE-связывающие белки DREBP и АР2 — обнаружены в ядерном экстракте из *A. thaliana.*

Вопросы для самоконтроля

1. Эффективность использования воды растениями.
2. Понижение водного потенциала растительных клеток как стратегия избежания
3. обезвоживания. Свойства и функции осмолитов.
4. Белки, образующиеся в клетках растений при дегидратации.
5. Защитные и регуляторные функции белков, индуцируемых водным дефицитом.
6. Регуляция экспрессии генов, индуцируемых водным дефицитом.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

а) основная литература (библиотека СГАУ)

1. **Кошкин, Е. И.** Физиология устойчивости сельскохозяйственных культур : учебник / Е. И. Кошкин. - М. : Дрофа, 2010. - 638 с. : ил. - (Учебники и учеб. пособия для студентов высш. учеб. заведений). - ISBN 978-5-358-07798-0

2. Физиология и биохимия сельскохозяйственных растений : учебник / Н. Н. Третьяков [и др.]; ред. Н. Н. Третьяков. - М.: КолосС, 2005. - 656 с. : ил. - (Учебники и учеб. пособия для студентов высш. учеб. заведений). - ISBN 5-9532-0185-0

б) дополнительная литература

1. Биохимия: учебник / В. Г. Щербаков, В. Г. Лобанов, Т. Н. Прудникова. - 3-е изд., испр. и доп. - СПб. : ГИОРД, 2009. - 472 с. : ил. - ISBN 5-98879-008-9

2. Козьмина, Н. П. Зерноведение с основами биохимии растений : научное издание / Н. П.

Козьмина, В. А. Гунькин, Г. М. Суслянок. - М. : Колос, 2006. - 464 с.: ил. - (Теоретические основы прогрессивных технологий: биотехнология). - ISBN 5-10-0039.

3. Основы биохимии: практикум / ФГОУ ВПО СГАУ, Факультет защиты растений и агроэкологии ; сост. С. В. Душехватов. - Саратов: ФГОУ ВПО "Саратовский ГАУ", 2009. - 80 с.

4. Физиология растений с основами экологии: учебное пособие / И. В. Сергеева, А. И. Перетятко. - Саратов: ФГБОУ ВПО "Саратовский ГАУ", 2011. - 344 с.: ил. - ISBN 978-5-7011-0740-1

Лекция 7.

ЗАСУХОУСТОЙЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ.

7.1. Понятие о засухоустойчивости растений.

Более трети земной поверхности составляют территории засушливых регионов (годовая сумма осадков ниже 250 мм). Половина этой площади (около 12% суши) относится к крайне аридным территориям. Многие сельскохозяйственные районы расположены в аридных зонах. Ежегодные потери урожая от засухи огромны, так как даже в умеренной зоне за вегетационный период растения испаряют воды больше, чем выпадает атмосферных осадков. Понятно поэтому, насколько важно знать механизмы устойчивости растений к водному дефициту и способы ее повышения.

Засухи, т.е. явления, при которых расход воды превышает ее поступление, бывают почвенные и атмосферные. Чаще всего засуха начинается с атмосферной, характеризующейся низкой относительной влажностью воздуха, чему сопутствуют повышенная температура и высокая инсоляция. При длительном отсутствии дождей к атмосферной засухе добавляется почвенная, возникающая в результате усиливающегося испарения воды и транспирации растений. Вместе с тем суховей - атмосферная засуха с сильным ветром может и не вызывать почвенного дефицита влаги. При сильном ветре происходит быстрое высыхание тканей без пожелтения ("захват") или появляются ожоги в виде бурых пятен ("запал").

Как известно, разнообразные глинистые минералы (алюмосиликаты) и гумусовые вещества почвы - коллоиды могут удерживать значительное количество воды. Кроме того, вода входит в состав многих сложных химических комплексов, образующихся в почве.

Эта вода называется связанной и недоступна для растении. Доступна растениям вода почвенного раствора, содержащаяся в капиллярах почвы, или капиллярная вода. Количество воды, которое почва способна удержать вследствие капиллярных взаимодействий и оводнения коллоидных частиц, называется полевой влагоемкостъю. Она характеризует максимальное количество почвенной влаги. После атмосферных осадков в почве помимо капиллярной воды бывает много так называемой гравитационной воды. Она тоже потребляется растениями, но довольно быстро уходит в нижележащие почвенные горизонты. Почва среднего механического состава (супесчаная и суглинистая) имеет максимальную полевую влагоемкость. В глинистых почвах больше связанной воды, а в песчаных - гравитационной.

Дефицит влаги наблюдается в жаркое полуденное время, при этом увеличивается сосущая сила листьев, что активизирует поступление воды из почвы и раскрывание устьиц.

Тургор листьев, потерянный днем, восстанавливается вечером и ночью. Такое состояние растений называется временным завяданием, а влажность почвы, приводящая к этому, - влажностью временного завядания (ВВЗ). Когда запасы доступной воды в почве исчерпаны, развивается глубокое, или стойкое, завядание растений, в этом случае тургесцентность тканей утром не восстанавливается. Влажность почвы в этих условиях - это влажность стойкого завядания (40% от полной влагоемкости). Разность между полевой влагоемкостыо и влажностью временного завядания отражает запас доступной воды в почве. В песке содержание доступной воды и влагоемкость ниже, чем в глине.

Большинство активно вегетирующих растений завядают при водном дефиците -1,5 МПа, а гибнут при -15 МПа (ВВЗ -2,5 ÷ -3,5 МПа). Пыльца растений выносит водный дефицит до -100, семена до -150 МПа.

При небольшом дефиците воды (5-10%) интенсивность метаболизма у большинства растений достаточно велика. В этих условиях транспирация высока при максимально открытых устьицах. Эффективно осуществляются фотосинтез и другие процессы обмена

веществ. Снижение содержания воды на 20-30% приводит к развитию водного дефицита в тканях, который возникает задолго до того, как содержание влаги в почве достигнет уровня устойчивого завядания.

7.2. Реакции растений на засуху.

При недостатке влаги в растениях происходят значительные изменения обмена веществ. Содержание свободной воды в клетках уменьшается, возрастает концентрация клеточного сока и цитозоля. Гидратные оболочки белков и других полимеров утоньшаются или утрачиваются. Потеря гидратных оболочек у белков приводит к нарушению их третичной и четвертичной структуры и, в конечном счете, к денатурации. Активность ферментов снижается, а затем они инактивируются.

Проницаемость мембран возрастает. Вследствие дегидратации мембраны утрачивают бислойные структуры и в них обнаруживаются значительные конформационные изменения (образование гелевой фазы). Меняется и качественный состав мембран, поскольку инактивируются десатуразы, что приводит к уменьшению количества ненасыщенных жирных кислот (линолевой, линоленовой) в составе липидных компонентов мембран. В результате индекс ненасыщенности падает, что установлено для хлоропластов, митохондрий, ЭПР. Текучесть мембран уменьшается, и ингибируется их функциональная активность. При увеличении проницаемости плазмалеммы она теряет кальции, при этом улучшается ее проводимость для воды. Одновременно с транспортом воды изменяется актив- ность цАМФ и Ca2+-зависимой протеинкиназы, которые участвуют в качестве мессенджерных систем в регуляции транспорта воды. Так, для удержания воды в клетке необходимо цАМФ-зависимое фосфорилирование белков мембран, которое возможно в присутствии определенного количества Ca2+.

Гидролиз различных органических веществ начинает преобладать над их синтезом. В результате протеолиза происходит накопление низкомолекулярньж белков, усиливается гидролиз полисахаридов и увеличивается концентрация растворимых углеводов. С одной стороны, это осмотически активные вещества, и увеличение их содержания способствует повышению концентрации вакуолярного клеточного сока и росту осмотического давления, а значит, и большему поступлению воды. С другой стороны, состав клеток меняется, значительная часть ионов выходит из клеток, что ведет к подавлению синтеза и инактивации ферментов. Гидролитические процессы активируются в первую очередь в старых листьях нижних ярусов. Интенсивный отток продуктов гидролиза в верхние, более молодые листья и включение их в обмен веществ позволяют растению более экономно расходовать питательные субстраты, а опадение листьев уменьшает транспирирующую поверхность.

Идет интенсивный распад полирибосом, снижается интенсивность синтеза РНК, и уменьшается ее количество. Активируются рибонуклеазы. Изменение же ДНК наблюдает-ся только при сильной и длительной засухе.

Происходит задержка роста вследствие торможения и клеточного деления и растяжения, для которого особенно необходима вода. В результате клетки становятся более мелкими, чем обычно. Наряду с ингибированием роста листьев и стеблей рост корней, особенно у засухоустойчивых растений, может даже активироваться для скорейшего достижения водоносных слоев почвы.

Изменения интенсивности дыхания в зависимости от содержания воды в тканях графически в большинстве случаев могут быть представлены колоколообразной кривой, отражающей их двухфазный характер. При небольшой потере воды наблюдается возрастание интенсивности дыхания, а при глубоком дефиците - понижение. Первоначальное повышение интенсивности дыхания связано с увеличением энергетических затрат на синтез осмотиков, защищающих белки при обезвоживании. При более продолжительном воздействии происходит спад интенсивности дыхания и

снижается его энергетическая эффективность в результате повреждения дыхательных систем.

Интенсивность фотосинтеза снижается раньше, чем интенсивность дыхания. Ингибируются как фотохимические реакции, так и реакции восстановления СО2. Ограничение работы фотосинтетического аппарата обусловлено закрыванием устьиц и уменьшением поступления углекислого газа, а также нарушением структуры хлоропластов и синтеза хлорофилла, разобщением транспорта электронов и фосфорилирования, что ведет к дефициту АТФ в клетке. В совокупности с ингибированием ЭТЦ дыхания это способствует торможению синтетических процессов у растения в целом. К тому же при засухе накапливаются токсические продукты обмена, в том числе интермедиаты ПОЛ, особенно в связи с инактивацией фотосинтетического и окислительного фосфорилирования и высокой интенсивностью света.

Таким образом, неблагоприятное действие засухи состоит в первую очередь в обезвоживании и нарушении метаболических процессов. Такие реакции растений развиваются в ответ на недостаточное снабжение водой или комплексное действие водного дефицита, интенсивного света и перегрева. Кроме того, надо иметь в виду, что в онтогенезе существуют наиболее чувствительные периоды к высокой температуре и дефициту влаги. Эти периоды совпадают с наиболее интенсивным ростом растений и образованием гамет. Максимально устойчивы растения в период покоя, в виде семян, луковиц и т.п.

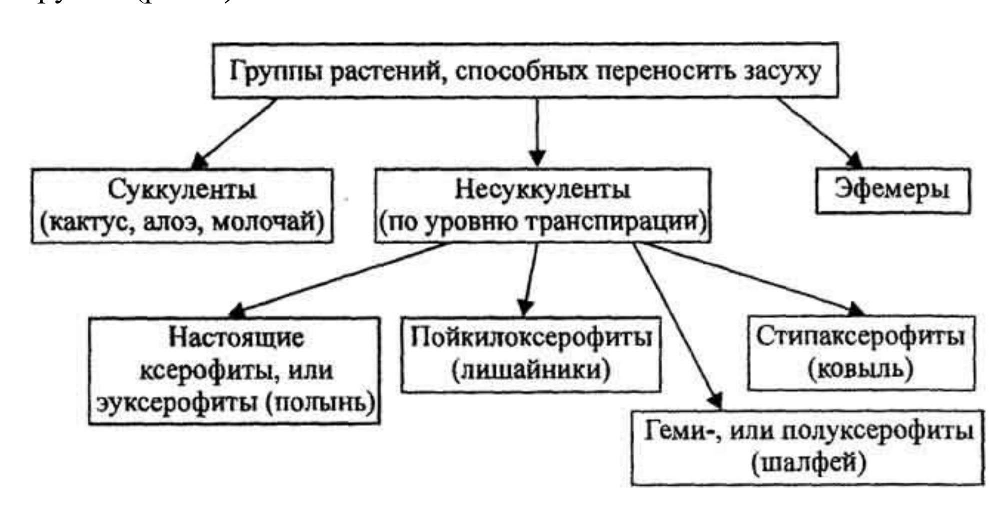
7.3. Группы растений, способных переносить засуху.

По способности переносить условия засухи различают растения гомойогидрические, т.е. способные активно регулировать свой водный обмен, и пойкилогидрические, водный обмен которых определяется содержанием воды в окружающей среде. При засухе они пассивно теряют воду.

Гомойогидрическими являются большинство высших растений. Они обладают тонкими механизмами регуляции устьичной и кутикулярной транспирации, а также мощной корневой системой, обеспечивающей поставку воды. Поэтому даже при значительных изменениях влажности не наблюдается резких колебаний содержания воды в клетках. Различают: ксерофиты - растения сухих местообитаний, мезофиты - обитатели мест с умеренным содержанием воды, и гигрофиты - наземные растения, находящиеся обычно в условиях избыточной влажности. Гигрофитам близки гелофиты - растения болот, берегов водоемов, и гидрофиты, обитающие в водной среде.

Ксерофиты, в свою очередь, по механизму приспособления к засухе подразделяются на следующие группы (рис. 1).

Рис. 1



Первая - суккуленты, или псевдоксерофиты (кактус, алоэ, молочай), запасающие влагу в листьях, стеблях, покрытых толстой кутикулой, волосками. Транспирация, фотосинтез, рост осуществляются медленно. Разветвленная корневая система уходит в почву неглубоко. Траты воды сведены к минимуму, и обезвоживание суккуленты переносят плохо. Эти растения способны использовать даже скудную влагу атмосферных осадков. К ним относятся растения с САМ-типом фотосинтеза (Crassulacea Acid Metabolism), которые эффективно используют воду. У таких растений мало устьиц, днем они обычно закрыты, что предотвращает потерю воды, а открываются ночью. Тогда $CO2$ поступает в листья и в результате карбоксилирования фосфоенолпирувата сохраняется в виде оксалоацетата, который, восстанавливаясь до малата, накапливается в вакуолях клеток листа. Использование внутренних резервов $CO2$ происходит днем при закрытых устьицах. Малат из вакуоли поступает в цитоплазму, декарбоксилируется НАДФ-зависимым малик-энзимом, в результате чего образуются пируват и $CO2$. Углекислота поступает в хлоропласты и включается в цикл Кальвина.

Вторая- несуккулентные ксерофиты, которые, в свою очередь, по уровню транспирации делятся на четыре группы:

1) эуксерофиты, или настоящие ксерофиты (полынь), жароустойчивы, с небольшими, опушенными листьями, транспирация невысока, могут выносить сильное обезвоживание, осмотическое давление велико; корневая система разветвлена, находится на не большой глубине; для них характерно экономное расходование воды благодаря регуляции работы устьиц; они переносят как обезвоживание, так и перегрев; тем не менее при обилии воды в почве рост этих растении интенсифицируется;

2) гемиксерофиты, или полуксерофиты (шалфей), отличаются очень интенсивной транспирацией благодаря деятельности глубокой корневой системы, доходящей до грунтовых вод; транспирация способствует самоохлаждению; число устьиц велико, хорошо развита система проводящих элементов; вязкость цитоплазмы низкая, полное обезвоживание без доступа корней к источнику воды гемиксерофиты переносят плохо;

3) стипаксерофиты (степные злаки - ковыль) быстро используют влагу кратковременных дождей, хорошо выносят перегрев, но лишь недолгое обезвоживание;

4) пойкилоксерофиты, в отличие от гомойогидрофитов, не способны регулировать водный режим, поэтому теряют воду, вплоть до перехода в воздушно-сухое состояние, и при засухе впадают в анабиоз; к этой группе относятся лишайники, мхи, ряд цветковых растений; водный дефицит вызывает у них постепенное снижение интенсивности обмена веществ; клетки пойкилоксерофитов, отдавая воду, постепенно уменьшаются в объеме.

Третья - эфемеры, растения, которые "уходят" от засухи: их короткий вегетационный период совпадает с периодом дождей.

Мезофиты также могут приспосабливаться к временной засухе, при этом у них выявляются признаки ксерофитов. Например, верхние листья, которые хуже снабжаются водой, у мезофитного растения отличаются мелкоклеточностью. У них большое количество мелких устьиц на единицу поверхности, которые дольше остаются открытыми; сеть проводящих пучков гуще, палисадная паренхима развита лучше. Явление ксероморфизации верхних листьев известно как закон В.Р. Заленского (1904). Благодаря открытым устьицам фотосинтез поддерживается на высоком уровне, образуется значительное количество ассимилятов, что способствует увеличению концентрации клеточного сока и оттягиванию воды от ниже расположенных листьев. Таким образом, возникновение ксероморфной структуры наряду с редукцией листьев, опушенностью, толстой кутикулой и т.п. служит анатомическим приспособлением к недостатку воды.

7.4. Механизмы приспособления растений к засухе.

Существование растений при водном дефиците зависит от доступности воды и от эффективности ее использования. Лучше переносят засуху растения, обеспечивающие себя водой или использующие ее наиболее продуктивно. Механизмы устойчивости к водному дефициту обычно делят на способы избежания стресса, т.е. сохранения нормальной оводненности растительных тканей, и механизмы толерантности, позволяющие функционировать при дегидратации (рис. 2).

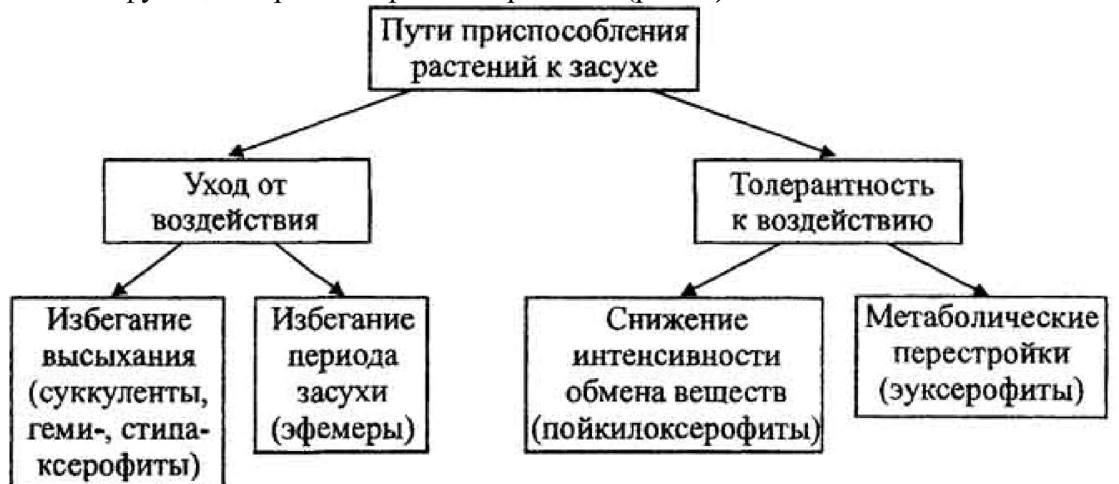


Рис. 2. Пути приспособления растений к засухе

Избежание высыхания обеспечивается высоким водным потенциалом за счет добывания воды, ее удержания и экономного расходования. Для этих растений характерно:

• 1) глубокое проникновение корней вплоть до грунтовых вод и большая скорость их роста (гемиксерофиты);

• 2) хорошая устьичная регуляция (суккуленты);

• 3) меньшее количество устьиц, погруженные устьица (суккуленты, ксерофиты);

• 4) определенная ориентация листьев и их скручивание (гемиксерофиты, стипаксерофиты);

• 5) уменьшение размеров листьев, их опушенность, многослойный эпидермис и палисадная паренхима (мезофиты, ксерофиты);

• 6) толстая кутикула для снижения кутикулярной транспирации, которая может составлять от 5% до 25% и даже 50% от полной транспирации у приспособленных видов (ксерофиты);

• 7) большое число крупных сосудов ксилемы (гемиксерофиты);

• 8) высокое содержание осмотически активных веществ (ксерофиты);

• 9) опадение листьев, поскольку листопадность деревьев возникла как приспособление к перенесению не только холодного времени года, но и сухих сезонов (мезофиты, ксерофиты); если вслед за сухим периодом наступает сезон дождей, то могут появиться новые листья, что повторяется несколько раз в году.



Рис. 3. Механизмы приспособления растений к засухе на уровне клетки, организма и популяции.

Нередки также случаи "ухода" от периода засухи. Например, прохождение вегетации до наступления сильной засухи (эфемеры).

Механизмы толерантности (рис. 3) обеспечивают растениям выживание и рост при низком водном потенциале в результате снижения интенсивности обмена веществ (пойкилоксерофиты) или метаболических перестроек (эуксерофиты). Во многом эти механизмы те же, что и для избежания обезвоживания.

Особое значение они имеют в аридных зонах при экстремальных условиях, когда доступных запасов влаги в почве нет, а водоудерживающей способности оказывается недостаточно, чтобы защитить растения от обезвоживания и низкого водного потенциала (настоящие ксерофиты - эуксерофиты, пойкилоксерофиты, впадающие в анабиоз). При этом у мезофитов и ксерофитов высокий водный потенциал может сочетаться как с большой эффективностью использования воды (низкий коэффициент транспирации у эуксерофитов), так и со значительной потребностью в воде (высокий транспирационный коэффициент у теми- и стипаксерофитов).

Механизмы толерантности функционируют на уровне клетки, организма и популяции. На уровне клетки большую роль в обеспечении высокого водного потенциала играет осмотическая регуляция (рис.). Осмотики должны быть нетоксичными, обладать очень высокой растворимостью, по возможности быть биполярными, чтобы заменять диполи воды, и не участвовать в основных метаболических процессах (именно поэтому сахара - плохие осмотики). Роль осморегулирующих веществ играют различные моно- и олигосахариды, аминокислоты, в первую очередь пролин, производные аминокислот - бетаины и многоатомные спирты (рис. 3). Особое значение в осморегуляции имеет свободный пролин - стрессовый метаболит, содержание которого сильно возрастает при засухе, что связывают с распадом хлорофилла, белков. Установлена связь пролина и АБК, поскольку последняя увеличивает его содержание. Пролин образуется из органических кислот - интермедиатов дыхания, и азота нитратов, которые особенно интенсивно накапливаются в сосудистых пучках и эпидермисе. Он синтезируется из глутамина, а бетаин - из аминоспирта холина, входящего в состав фосфолипидов. Содержание этих предшественников увеличивается в стрессовых условиях в связи с активацией гидролитических процессов и распадом белков и липидов.

В условиях водного дефицита активируется синтез не только низкомолекулярных осмотиков, но и различных стрессовых белков, в том числе и белков, удерживающих воду и ионы. Так, в клетках при засухе накапливается осмотин-катионитный белок, его

содержание может составлять 12% от общего содержания белка. Он локализован в вакуолях и везикулах тонопласта. Стимулируют синтез осмотина и его мРНК иАБК.

При обезвоживании синтезируются белки - дегидрины семейства LEA. Эти белки, как указывалось выше (см. 1.2), при нормальном водоснабжении растений обычно синтезируются в зародышах на стадиях позднего эмбриогенеза, когда происходит естественное обезвоживание созревающих семян. Различные представители этого семейства белков взаимодействуют с клеточными структурами, предохраняя их от деградации при обезвоживании, связывают воду. В состав стрессовых белков входят также аквапорины – каналы для поступающей воды, которые облегчают водный транспорт через мембраны в осмотически зависимых ситуациях. У растений найдены два типа аквапоринов - в плазматической и вакуолярной мембранах.

К функциональным белкам, способствующим повышению устойчивости к засухе, относятся и многочисленные гидролазы, в том числе ферменты протеолиза, ингибиторы протеаз, ферменты биосинтеза осмотиков. При водном стрессе синтезируются также регуляторные белки, которые участвуют в экспрессии генов и сигнальной трансдукции.

У многих растений, промежуточных между С3- и С4- или С3- и САМ-семействами, под действием засухи происходит индукция С4- или САМ-фотосинтеза. Это обусловлено экспрессией главных ферментов указанных альтернативных путей фиксации углекислоты: ФЕП-карбоксилазы и НАДФ-малик-энзима. Например, при недостатке воды обнаружена пятикратная активация гена изоформы ФЕП-карбоксилазы, которая обычно в молодых растениях проявляет низкую экспрессию. В результате в условиях засухи в 100 раз увеличивается содержание мРНК и активность САМ-специфичной ФЕП-карбоксилазы, т.е. происходит индукция САМ-лути, способствующая увеличению эффективности использования воды. Другой пример: при засухе увеличивается уровень активных радикалов кислорода - супероксидов, и вместе с тем экспрессируются некоторые изоформы СОД, что ведет к удалению радикалов и увеличению устойчивости.

Накопление указанных осмотически активных веществ обеспечивает высокую водоудерживающую способность цитоплазмы. Благодаря осмотической регуляции у растений при засухе сохраняются тургор и открытость устьиц, а следовательно, возможность нормального роста и поддержание других физиологических процессов. Степень осморегуляции специфична для видов и сортов и зависит от интенсивности засухи. При жестком водном дефиците ее роль в устойчивости снижается (суккуленты, гемиксерофиты).

Помимо осмотической регуляции в обеспечении толерантности клетки важную роль играет стабилизация клеточных мембран (рис. 3). У растений, устойчивых к засухе, при дегидратации предотвращаются разрушение бислойной структуры липидов и соответствующие структурные и конформационные изменения белков мембран. Этому способствует накопление при обезвоживании ди- и олигосахаридов. Они взаимодействуют с полярными головками фосфолипидов, не допуская слипания мембран. Эти соединения противостоят также повышению температуры фазового перехода гель-жидкий кристалл (гельзоль). В результате целостность мембран у организмов, устойчивых к засухе, сохраняется лучше. Так, плазмалемма у приспособленных к засухе растений теряет барьерные свойства в ходе дегидратации при значительно более низком содержании воды, чем у чувствительных. Сохранение стабильности мембран важно для эффективной осморегуляции, поскольку только функционально активные мембраны способны выдержать большие концентрации осмотиков. Стабильность мембран необходима для поддержания энергетических процессов - аэробного дыхания и фотосинтеза.

У мезофитов, различающихся по устойчивости к засухе, кривые интенсивности дыхания в зависимости от степени обезвоживания отличаются по положению максимума. У устойчивых растений максимальная интенсивность дыхания достигается при более сильном водном дефиците, чем у неустойчивых (рис. 3). Если сравнивать интенсивность

дыхания у растений, относящихся к различным группам по способности переносить засуху, оказывается, что у ксерофитов с потерей воды дыхание долгое время не меняется, т.е. их дыхательные системы более устойчивы к обезвоживанию. У пойкилоксерофитов, например фиалки сербской (Ramondia serbicd), наоборот, интенсивность дыхания определяется насыщенностью клеток водой.

Что касается качественных перестроек дыхания, то при засухе возрастает доля ПФП по сравнению с дихотомическим. Это явление связывают с потребностью в увеличении оттока восстановительных эквивалентов, необходимых для процессов гидроксилирования, в ЭПР.

Усиливается активность внемитохондриальных систем окисления в результате ослабления переноса электронов в ЭТЦ митохондрий при засухе, что связано с обеспечением детоксикации продуктов распада. Обезвреживание (жободнорадикальньгх соединений, которые образуются при засухе, как и при других стрессовых воздействиях, за счет активации анти-оксидантных систем весьма существенно для устойчивости к обезвоживанию.

Таким образом, детоксикация продуктов распада также входит в число важных механизмов толерантности (рис. 3).

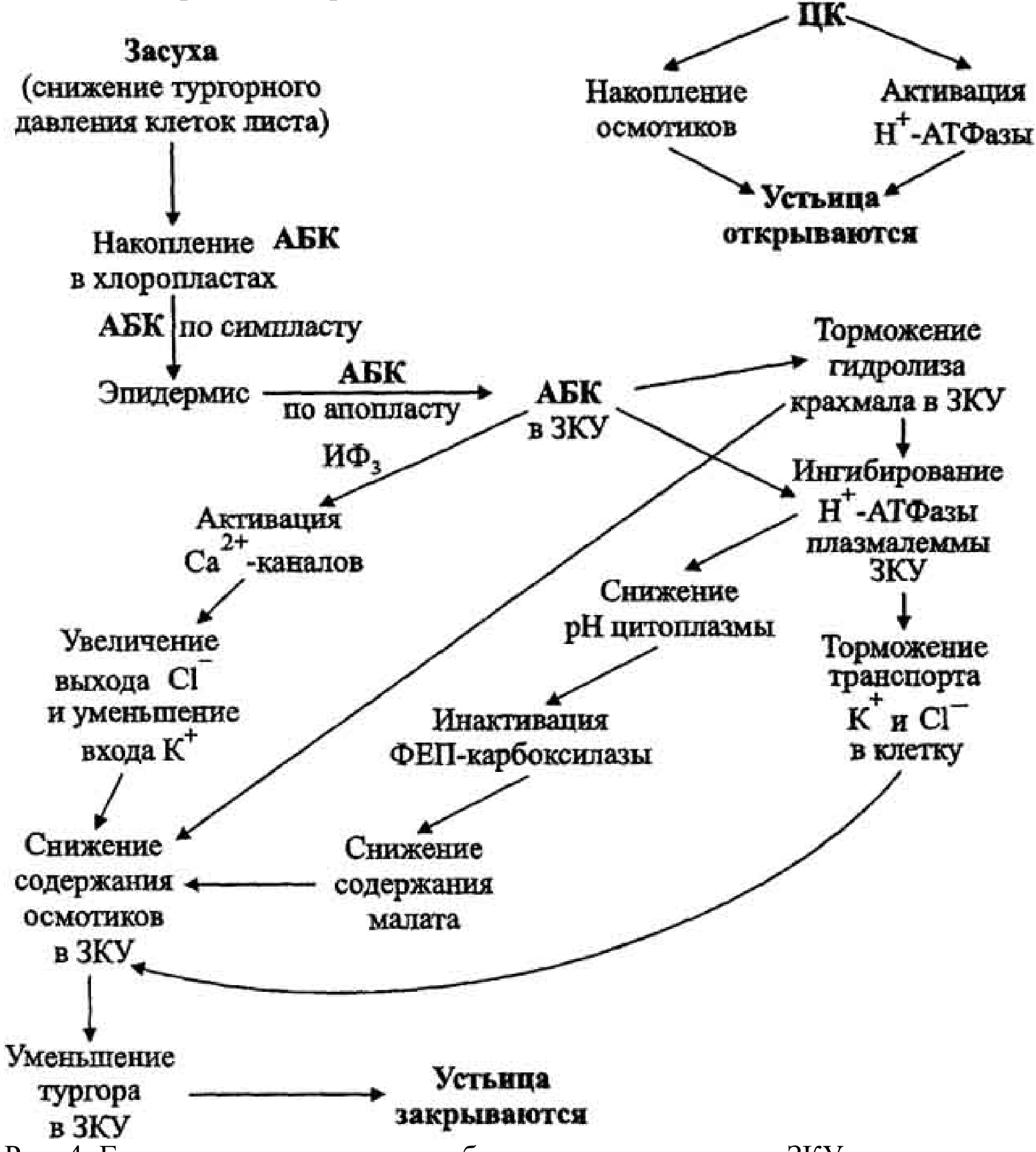


Рис. 4. Гормональная регуляция работы устьиц при засухе. ЗКУ – замыкающие клетки устьиц.

Детоксикация образующегося при протеолизе аммиака осуществляется с участием органических кислот, количество которых возрастает при засухе и высоких температурах за счет активации дыхания. С необходимостью обезвреживания накапливающихся при засухе фенольных соединений связывают и повышение активности пероксидазы-оксипролинсодержащего белка. Считается, что это стрессовый фермент, который активируется при различных воздействиях. Под влиянием засухи появляются новые изозимы пероксидазы. Поскольку пероксидаза частично выполняет функции ИУК-оксидазы, увеличение числа ее изозимов объясняется необходимостью разрушения с их помощью ИУК и торможением роста. Кроме того, повышение активности этого фермента и расширение ее изоэнзимного спектра при засухе может быть связано с разрушением пероксида водорода и ограничением свободнорадикальных процессов. Пероксидаза активируется также под влиянием этилена, уровень которого, а также АБК возрастает при недостатке влаги. Количество же гормонов-активаторов роста: ауксина, гиббереллинов (ГБ), цитокинина (ЦК), наоборот, падает. Следовательно, перестройки в гормоналъной системе растений тоже относятся к механизмам устойчивости к засухе.

Накопление АБК вызывает закрывание устьиц (рис. 4). Работа устьичного аппарата основывается на осморегуляции замыкающих клеток устьиц, которые благодаря асимметрическому утолщению клеточной стенки открывают устьичную щель в тургесцентном состоянии и закрывают ее при потере тургора. Высокое осмотическое давление в замыкающих клетках поддерживается за счет образования маната при карбоксилировании ФЕП и активного транспорта ионов калия и хлора. Снижение тургорного давления в клетках при обезвоживании резко активирует синтез АБК, которая накапливается главным образом в хлоропластах клеток листа. АБК выходит из хлоропластов и по симпласту транспортируется в эпидермис. Оттуда по апопласту гормон попадает в замыкающие клетки устьиц, где ингибирует работу Н+-АТФаз плазмалеммы и гидролиз крахмала в хлоропластах. Инактивация протонной помпы снижает поступление ионов калия и хлора (вторичный активный транспорт тормозится при ингибировании первичного). Это приводит к закислению цитоплазмы. Низкое значение рН инактивирует ФЕП-карбоксилазу, оптимум активности которой находится в щелочной среде, и ведет к снижению уровня малага. Через фосфоинозитольнвш цикл АБК активирует кальциевые каналы. Нарастание содержания кальция в цитоплазме ведет к деполяризации мембраны, анионные каналы плазмалеммы открываются, и ионы хлора покидают клетку. Одновременно закрываются калиевые каналы, что приводит к понижению поступления в клетку калия. В результате этих процессов содержание осмотиков в замыкающих клетках падает, они теряют тургор и устьица закрываются.

В отличие от АБК накопление ЦК способствует открыванию устьиц вследствие активации протонной помпы и накопления осмотиков в замыкающих клетках, что весьма неблагоприятно при обезвоживании. Однако во время репарации после засухи обработка ЦК значительно улучшает состояние растений. Поэтому открывание устьиц во время засухи осуществляется посредством регуляции уровней АБК и ЦК в растительных тканях.

Кроме того, АБК участвует в осморегуляции и других клеток. Она активирует синтез пролина и целого ряда стрессовых белков: аквапоринов, дегидринов, осмотина, ферментов синтеза пролина и т.п. Это способствует запасанию гидратной воды, тормозит синтез РНК и обычных белков. Действие АБК затрагивает метаболизм других фитогормонов. Она усиливает синтез этилена, оказывает ингибирующее воздействие на транспорт ауксина, задерживает синтез и ускоряет распад цитокинина. Совместно с этиленом или самостоятельно АБК вызывает опадение листьев.

Изменение гормонального статуса приводит к торможению роста, при этом потребности организма в воде уменьшаются. Обмен веществ переводится в режим покоя, энергетические процессы переключаются на поддержание целостности растения и репарацию повреждений.

Отметим, что у пойкилоксерофитов, переходящих при наступлении засухи в состояние анабиоза, прекращение роста не связано с накоплением ингибиторов роста, хотя у некоторых растений повышается содержание ингибиторов роста фенольной природы, например хлорогеновой кислоты, флавоноидов, фенолкарбоновых кислот. Изменения в со держании фитогормонов, но более кратковременные, наблюдаются и у мезофитов при засухе.

Для синтеза стрессовых белков и успешного восстановления обмена после засухи важно сохранение ненарушенным генетического аппарата клетки. Защита нуклеиновых кислот от засухи осуществляется различными стрессовыми белками - шаперонами. Они в состоянии долгое время поддерживать целостность ДИК даже при абсолютном обезвоживании (у пойкилоксерофитов). Повреждение ДНК обнаруживается лишь при сильной и длительной засухе. На этом этапе главную роль играют системы репарации повреждений.

Сигнал засухи воспринимается осмосенсорами, которыми могут быть механические изменения плазматической мембраны или состояния цитоскелета, окислительный взрыв,

т.е. накопление активных форм кислорода (рис. 5). В цитоплазме клетки имеются белковые факторы транскрипции (трансфакторы), DREB (dehydration responsible elements binding), связывающиеся с элементами дегидратации - регуляторными элементами (промоторами) генов в ядре (DRE) TACCGACAT.

Трансдукция сигнала из цитоплазмы в ядро связана с участием ионов кальция, инозитольного цикла, фосфорилированием, которое осуществляется Са- или MAP-зависимыми протеинкиназами. В результате передачи сигнала в ядро происходят изменения экспрессии генов, которые влекут за собой биохимические и физиологические изменения - синтез стрессовых белков и повышение устойчивости.

Индуктором синтеза белков в условиях засухи или засоления, холода, высокой температуры и даже кислородной недостаточности, т.е. при нарушении осмотической регуляции, может быть и АБК. Последовательность и компоненты реакций при действии АБК подобны описанным выше (рис. 5). Их дополняет только иной регуляторный белок, относящийся к белковым факторам транскрипции (b-zip), и регуляторный элемент генов - ABRE (PyACGTGGC), т.е. элементы ответа на АБК. В результате синтезируются АБК-чувствительные или Rab-белки. При обычном водоснабжении их нет в листьях, но недостаток воды вызывает накопление в листьях АБК, которое индуцирует синтез этих гидрофильных белков, устойчивых к дегидратации.

Итак, к клеточным механизмам толерантности относятся: 1) осмотическая регуляция; 2) стабилизация клеточных мембран; 3) перестройки в процессе дыхания; 4) детоксикация токсических продуктов обмена; 5) изменение гормональной регуляции обмена веществ; 6) перестройки в работе генетического аппарата, направленные на регуляцию синтеза стрессовых белков.

Помимо механизмов устойчивости к действию обезвоживания на клеточном уровне включаются защитные реакции и на уровне организма (рис. 4.4), в которых участвует трофическая система регуляции. Нарушение работы фотосинтетического аппарата должно приводить к ингибированию оттока ассимилятов и нарушению донорно-акцепторных взаимодействий в организме. Однако выяснилось, что передвижение ассимилятов существенно ингибируется только при очень сильном водном дефиците. Эта относительная нечувствительность передвижения ассимилятов позволяет растениям мобилизовать и использовать их резервы, например для роста семян, даже при довольно сильном воздействии. Способность поддерживать транспорт углеводов является ключевым фактором устойчивости растений к засухе.

К механизмам устойчивости относится и формирование минимума (вследствие опадания или недоразвития) генеративных органов, которые растение в состоянии обеспечить питательными веществами. Это обусловлено конкурентными отношениями между органами за воду, питательные и другие вещества. Ускоряется также старение

нижних листьев, происходят регенерация и рост пазушных почек или регенерация утраченных органов.

Механизмы защиты на популяционном уровне также участвуют в формировании устойчивости растений, поскольку выживают именно те растения, у которых норма реакции находится в широком диапазоне экстремальных факторов, т.е. существует внутрипопуляпионная вариабельность уровня устойчивости.

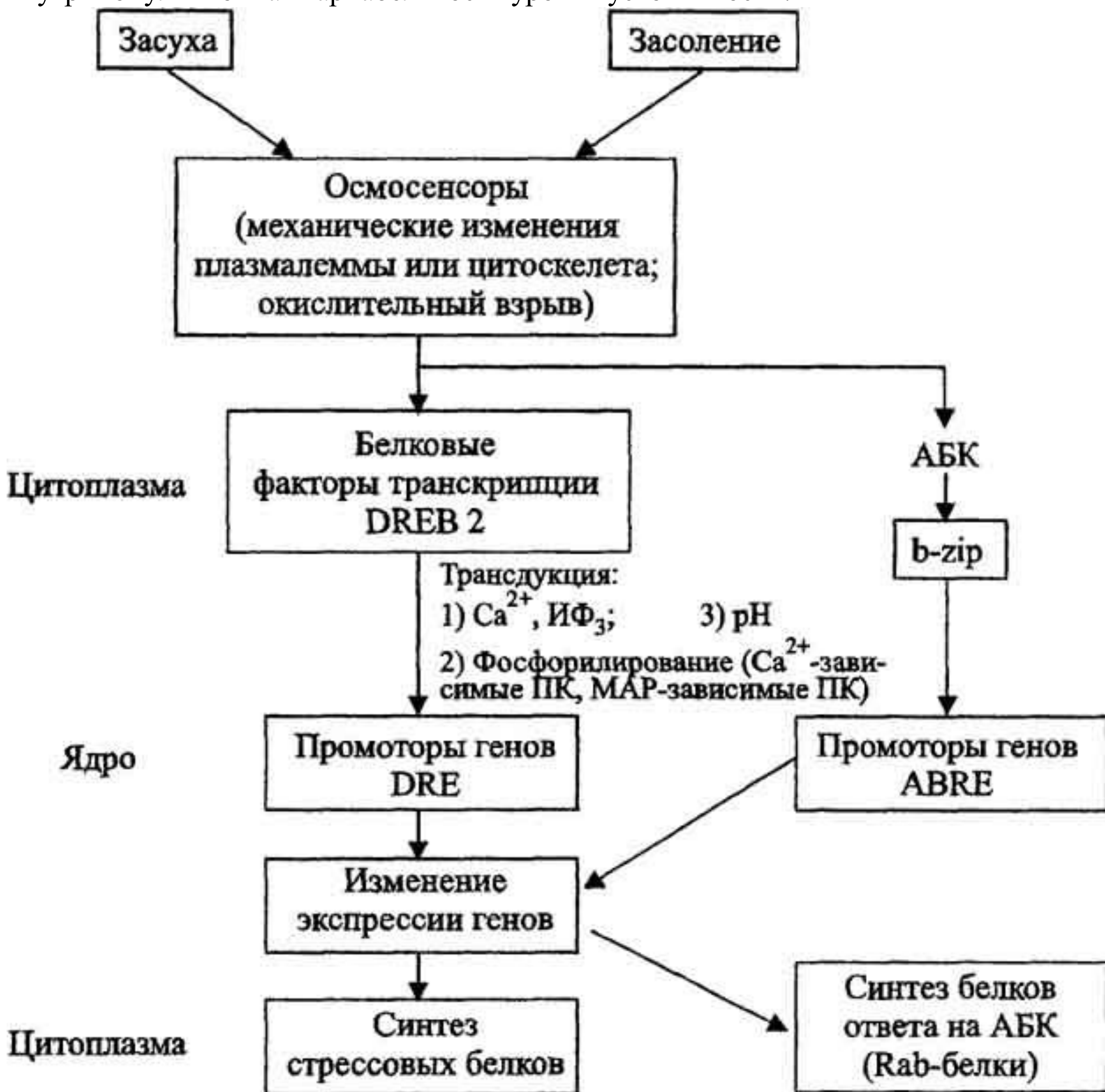


Рис. 5. Индукция синтеза стрессовых белков при засухе и засолении.

ПК - протеинкиназы, ИФ3 - инозитолтрифосфат, DREB 2 - dehydration responsible elements binding - белковые факторы транскрипции, отвечающие на засуху; DRE - dehydration responsible element - элементы ответа на засуху в промоторах генов; b-zip - регуляторный белок; ABRE - элементы ответа на АБК; Rab - белки ответа на АБК.

7.5. Повышение устойчивости к засухе.

Для повышения устойчивости к водному дефициту в практических целях необходимо знание механизмов устойчивости к засухе. Например, при учете гормональных перестроек, которые происходят в обмене веществ в указанных условиях, можно использовать обработку растений экзогенно вводимыми гормонами. Так, действие АБК ведет к уменьшению клеток, количества устьиц на листе, увеличению опушения листьев и

в результате к снижению реагирования организма на водный дефицит. Внесение же цитокинина, гиббереллина, ауксина во время засухи усугубляет ее отрицательный эффект. Однако после воздействия в период репарации состояние растений значительно улучшается. Повышает устойчивость и обработка семян до засухи цитокининовыми препаратами. Защитное действие цитокинина связывают с его влиянием на структуру и функции макромолекулярных компонентов клетки. Обработка гормонами важна и в целях повышения деятельности белок-стимулирующих систем. При предпосевной закалке к засухе функциональная активность рибосом стимулируется, что также определяется большой устойчивостью белоксинтезирующей системы. У закаленных растений сохраняется способность к синтезу белка при частичном обезвоживании. Закалке к засухе способствует также предпосевное намачивание и высушивание семян. Полученные из таких семян растения отличаются ксероморфной структурой и повышенной засухоустойчивостью.

Стойкость к засухе возрастает при достаточном обеспечении калием, который улучшает поглощение и использование воды, снижает транспирацию в результате более эффективной регуляции работы устьичного аппарата, усиления связывания воды. Благодаря калийным обработкам лучше развиваются и глубже проникают в почву корневые системы. Улучшается как работа фотосинтетического аппарата, так и отток ассимилятов в репродуктивные органы, поскольку калий участвует в транспорте сахарозы. Будучи кофактором многих реакций фотосинтеза и дыхания, калий оказывает стимулирующее действие на поддержание основных физиологических процессов. Итак, закалке, или акклимации к осмотическому стрессу, способствует обработка защитными веществами (сахарами, АТФ, пролитом), гормонами (цитокинином, а также препаратом цитокининподобного действия - картолином), калием.

В связи с выявлением четкой зависимости устойчивости к засухе от содержания осмотиков в последние годы используется введение в геном растений генов, кодирующих энзимы, которые катализируют образование осмотически активных продуктов. Эти методы генной инженерии позволяют получить устойчивые к засухе трансгенные растения.

Так, например, ген p5cs из Vigna aconitifolia, который кодирует бифункциональный энзим, обладающий каталитическими активностями γ-глутамилкиназы и глутамил-γ-семиальдегид-дегидрогеназы, использовался для трансформирования табака. Этот энзим катализирует превращение глутамата до Δ'-пирролин-5-карбоксилата, который затем восстанавливается до пролина. Трансгенные растения табака продуцировали в 10-18 раз больше пролина и общей биомассы по сравнению с контрольными объектами. Повышение концентрации осмотика способствовало увеличению осмотического потенциала и облегчению выживания в условиях водного дефицита. В листья табака вводили также ген TPSI, кодирующий трегалозо-6-фосфатсинтазу из дрожжей Saccharomyces cerevisiae. Трансгенные растения табака приобретали устойчивость к засухе при возрастании уровня нередуцирующего дисахарида трегалозы, также обладающей осмозащитными функциями. Близкие данные получены при стимулировании синтеза фруктана и ряда других веществ с осмотическими свойствами. Трансгенные растения табака, у которых удалось экспрессировать СОД, также оказались более толерантными к дефициту воды.

Таким образом, повышение осмотического потенциала трансгенных растений за счет активирования синтеза защитных осмофильных веществ или ферментов системы детоксикации токсических веществ является новым и перспективным способом повышения устойчивости растений к засухе.

Вопросы для самоконтроля

1. Понятие о засухоустойчивости растений.
2. Реакции растений на засуху.

3. Группы растений, способных переносить засуху.
4. Механизмы приспособления растений к засухе.
5. Повышение устойчивости к засухе.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

а) основная литература (библиотека СГАУ)

1. **Кошкин, Е. И.** Физиология устойчивости сельскохозяйственных культур : учебник / Е. И. Кошкин. - М. : Дрофа, 2010. - 638 с. : ил. - (Учебники и учеб. пособия для студентов высш. учеб. заведений). - ISBN 978-5-358-07798-0
2. Физиология и биохимия сельскохозяйственных растений : учебник / Н. Н. Третьяков [и др.]; ред. Н. Н. Третьяков. - М.: КолосС, 2005. - 656 с. : ил. - (Учебники и учеб. пособия для студентов высш. учеб. заведений). - ISBN 5-9532-0185-0

б) дополнительная литература

1. Биохимия: учебник / В. Г. Щербаков, В. Г. Лобанов, Т. Н. Прудникова. - 3-е изд., испр. и доп. - СПб. : ГИОРД, 2009. - 472 с. : ил. - ISBN 5-98879-008-9
2. **Козьмина, Н. П.** Зерноведение с основами биохимии растений : научное издание / Н. П. Козьмина, В. А. Гунькин, Г. М. Суслянок. - М. : Колос, 2006. - 464 с.: ил. - (Теоретические основы прогрессивных технологий: биотехнология). - ISBN 5-10-0039.
3. Основы биохимии: практикум / ФГОУ ВПО СГАУ, Факультет защиты растений и агроэкологии ; сост. С. В. Душехватов. - Саратов: ФГОУ ВПО "Саратовский ГАУ", 2009. - 80 с.
4. Физиология растений с основами экологии: учебное пособие / И. В. Сергеева, А. И. Перетятко. - Саратов: ФГБОУ ВПО "Саратовский ГАУ", 2011. - 344 с.: ил. - ISBN 978-5-7011-0740-1

Лекция 8.

ПЕРЕУВЛАЖНЕНИЕ КАК ИСТОЧНИК СТРЕССА.

8.1. Влияние на растения избытка воды в почве.

Наряду с засушливыми районами в нашей стране встречаются места с избыточно увлажненными почвами. Это Север и Северо-Запад европейской части России, Дальний Восток и некоторые другие. Достаточно сказать, что заболоченные и переувлажненные леса в этих регионах занимают почти 60 % всех лесных площадей. Пока еще значительны размеры избыточно увлажненных пахотных почв, продуктивность которых понижена. Особенно пагубно застойное переувлажнение почвы, существенно отличающееся от затопления проточной водой, например в поймах рек. Степень повреждения растений зависит от типа затопления, его продолжительности и силы, от содержания в почве органического вещества и характера почвообразования. Основным отрицательным фактором здесь выступает недостаток кислорода для растений.

В почвенной воде избыточно увлажненных лесов таежной зоны в течение большей части вегетационного периода содержится менее 2 мг/л кислорода, а в почвенном растворе верховой, переходной и низинной торфяной залежи заболоченных лесов на протяжении всей вегетации, особенно в южной подзоне тайги, растворенный кислород практически почти отсутствует.

Содержание кислорода в пределах 1 — 2 мг/л является критическим для роста корней, а 0,5 мг/л — смертельным: корни древесных растений через несколько дней отмирают.

При затоплении почвы, особенно богатой органическим веществом, в ней преобладают анаэробные процессы, приводящие к снижению окислительно-восстановительного потенциала, накоплению закисных форм железа и марганца, возрастает количество растворимых форм алюминия. Повышается в почвенном растворе и содержание аммиака, сероводорода (до 9 мг/л), появляется метан. Даже в сравнительно небольших концентрациях эти вещества являются токсичными для корней растений. Так, сероводород, проникая в ткани растений, инактивирует металлсодержащие ферменты, прежде всего оксиредуктазы и карбоксилазы, нарушая тем самым энергообмен, фотосинтез и другие процессы; поэтому сероводород можно считать одним из важнейших экологических факторов затопленных почв, особенно при значительном содержании в них органического вещества и сульфатов.

Затопление почвы приводит к снижению интенсивности дыхания корней, поглощения ими воды и минеральных веществ, интенсивности транспирации, фотосинтеза, передвижения ассимилятов, роста корней, побегов и стволов деревьев. При 48 часах корневой аноксии (отсутствия кислорода) наблюдаются повреждения мембран митохондрий, а через трое суток наступает полная дезорганизация их ультра структуры у чувствительных к аноксии растений. Окислительное фосфорилирование прекращается полностью. Разрушаются мембраны цитоплазмы, резко нарушается белковый обмен, повреждаются ядра клеток корней, что ведет к их отмиранию, а при длительной аноксии — и всего растения.

8.2. Влияние на растения недостатка или отсутствия кислорода.

Доступ кислорода к корням растений затрудняется (гипоксия) или совсем прекращается (аноксия). Известно, что обычно корни поглощают кислород, необходимый для дыхания, прямо из почвы. Хорошо структурированные почвы богаты кислородом. Но в плохо дренированных почвах при больших дождях поры заполняются водой, воздух вытесняется. Диффузия кислорода в воде происходит медленно, особенно при низких температурах. Вместе с тем кислород в почве необходим для жизнедеятельности

аэробных микроорганизмов. Поэтому при длительном затоплении в почве развиваются анаэробные процессы, преимущественно маслянокислое и другие виды брожения. Происходит подкисление околокорневой среды, накапливаются $C0_2$, CH_4, органические кислоты, спирты и другие соединения, многие из которых ядовиты для корней растений.

При затоплении тормозится прорастание семян, снижается поглощение воды, ингибируется процесс экссудации. Нарушение водного обмена растений проявляется в снижении оводненности и возрастании водного дефицита. Резко падает поглощение ионов через корни. В результате в надземных органах обнаруживается недостаток питательных веществ. Наблюдается задержка роста растений. Однако показана различная реакция на затопление органон растения: рост побегов иногда ускоряется, а рост подземных органов всегда тормозится. Надземные органы растения не испытывают недостатка кислорода и влияние затопления на них осуществляется опосредовано через нарушение кооперативных связей с корневой системой на уровне транспорта метаболитов и физиологически активных соединений. Даже непродолжительное переувлажнение (1—3 суток) на ранних этапах онтогенеза снижает продуктивность сельскохозяйственных культур. В корнях ингибируются аэробные процессы, начинается брожение и ПВК превращается в молочную кислоту, сказывается недостаток АТФ. Повышается значение рН цитоплазмы из-за утечки протонов и образования молочной кислоты, что является первым признаком повреждения клеток. Благодаря подкислению цитоплазмы ингибируется метаболизм.

Однако некоторые растения, хорошо переносят недостаток кислорода в почве. Наиболее приспособлены к недостатку кислорода такие группы растений, как гидрофиты, болотные, растения ветландов и виды, произрастающие на плотных почвах. Уникальной культурой по устойчивости к затоплению является рис, который обычно выращивается на затопляемых анаэробных почвах. Возможность произрастания растений в условиях переувлажнения (к гипо- и аноксии) обеспечивается, во-первых, поддержанием содержания кислорода в тканях, близкого к нормальному уровню; во-вторых, приспособлениями, позволяющими осуществлять обменные процессы при пониженной концентрации кислорода в среде (Т.В. Чиркова).

Сохранению необходимого уровня кислорода в тканях способствуют разнообразные анатомо-морфологические изменения. Происходит укорачивание и утолщение корней, образование дополнительной поверхностной корневой системы. В первую очередь тормозится рост первичных корней, тогда как в придаточных корнях ростовые процессы продолжаются. В большинстве случаев вновь появившиеся корни проявляют отрицательный геотропизм, направляя свой рост в поверхностные слои почвы, более богатые кислородом. Разрастается основание стебля, что обеспечивает закладку дополнительных придаточных корней и проводящих пучков. У большинства растений при затоплении возрастает общий объем газовых полостей, что способствует транспорту кислорода из атмосферы к затопляемым органам. Приводятся данные, что у водных растений около 50% объема листа, как правило, занято газовым пространством. Развивается вентиляционная сеть межклетников, воздухоносные полости (аэренхима), которые составляют непрерывную систему, по которой воздух транспортируется из надземных частей растений в корни. Существенную роль в обеспечении кислородом корневой системы имеют листья. Даже в условиях нормальной аэрации до 25% кислорода поступает в корни за счет транспорта его из надземной части. У древесных растений аналогичную функцию выполняют чечевички. Все эти приспособления способствуют тому, что растение получает возможность избежать действия неблагоприятного фактора. Однако система транспорта и накопления кислорода не всегда оказывается эффективной и поэтому важным являются физиолого-биохимические приспособления, обеспечивающие достаточный уровень обмена веществ при пониженной концентрации кислорода.

Эти приспособления связаны главным образом с процессом дыхания (Г.М. Гринева). Возрастает активность пентозофосфатного пути дыхания с окислением образующегося в

ходе его НАДФН. Увеличивается значение гликолитического пути распада глюкозы. Возрастает роль эффективной работы системы детоксикации продуктов анаэробного распада (этиловый спирт, молочная кислота), что подразумевает удаление этих веществ или включение в обмен. Так, у устойчивых к кислородному дефициту растений не наблюдается чрезмерного накопления продуктов брожения. Это достигается не только за счет предотвращения их образования. Может происходить выход этанола (и других продуктов) в околокорневую среду или подъем с транспирационным током в надземную часть и выход в атмосферу через листья и чечевички. Кроме того, образующийся этанол может разрушаться с участием алкогольдегидрогеназы. Показано, что в анаэробных условиях происходит повышение активности этого фермента. В условиях недостатка кислорода существует возможность замены атмосферного кислорода, как акцептора электронов, его аналогами. Такими соединениями в условиях гипоксии являются нитраты. Этот процесс переноса на NO, электронов и протонов, очень схожий с обычным дыханием, получил название нитратного дыхания. Перенос электронов также возможен на жирные кислоты, каротиноиды.

Происходят морфологические изменения структуры митохондрий, которые удлиняются, контактируют друг с другом и образуют митохондриальную сеть. Эта перестройка митохондриальных мембран имеет адаптивное значение, поскольку позволяет увеличить поверхность контакта внешней мембраны митохондрии с цитоплазмой и с мембранами ЭПР (Б.Б. Вартапетян).

При гипо- и аноксии изменяется количественное содержание и качественный состав белков. Обычно содержание белка снижается в связи с ускорением распада и торможением синтеза. Однако для ряда белков отмечается усиление - синтеза. Так, показано, что при помещении корней кукурузы в анаэробные условия синтез белков тормозится, однако образуется 20 полипептидов. Большинство этих анаэробных белков является ферментами брожения и гликолиза. Предполагается, что сигналом для образования этих белков является кальций, концентрация которого возрастает уже через несколько минут после начала гипоксии. Это может служить сигналом для образования мРНК, на которой транслируются такие ферменты как алкогольдегидрогеназа и сахарозосинтаза, которая катализирует превращения сахарозы. Также индуцируется синтез белков-ферментов гликолиза, спиртового брожения, азотного обмена (нитратредуктаза, нитритредуктаза), супероксиддисмутаза (СОД), катал аза и пероксидаза. Три последних фермента входят в антиоксидантную систему (АОС) и обеспечивают защиту от супероксидных радикалов и других АФК, образование которых при дефиците кислорода возрастает. У устойчивых растений увеличение синтеза белков-фер¬ментов происходит в большей степени. Кроме того, у них в меньшей степени снижается синтез белка, что связано с накоплением таких протекторных соединений как полиамины, которые ингибируют активность протеаз.

Синтезируются ферменты, связанные с лизисом клеточных стенок и образованием аэренхимы. Важное значение имеет появление фермента синтеза этилена аминоциклопропанкарбосинтазы (АЦК-синтаза). Этилен активирует синтез анаэробных белков-ферментов, под действием которых могут разрушаться клетки коры корня, что облегчает диффузию кислорода. Этилен влияет на рост стеблей, стимулирует образование придаточных корней. Многие эффекты этилена связаны с ауксинами, которые при затоплении участвуют в поддержании транспортных процессов, регуляции формирования аэренхимы, придаточных корней. Недостаток 02 приводит к образованию АБК, накопление которой подавляет синтез аэробных белков и индуцирует работу генов, кодирующих анаэробные белки. Под влиянием АБК увеличивается концентрация кальция в цитоплазме, ингибируется рост.

Изменения в гормональном балансе зависят от уровня дефицита кислорода, продолжительности действия стресс-фактора, устойчивости культуры, органа. Изменение гормонов при затоплении имеет фазный характер, что соответствует представлениям о

течении стресс-реакции (Е.Ю. Бахтенко). В первый период изменения гормонов характеризуются резким и значительным отклонением от нормы к минимуму или максимуму с последующим менее резким возвращением к показателям контроля. В дальнейшем (2-я фаза) изменения гормонов носят плавный характер. Таким образом, у растений, произрастающих в условиях переувлажнения, устойчивость к гипо- и аноксии достигается комплексом приспособлений, которые обеспечивают транспорт кислорода в корни, а также необходимые метаболические перестройки.

Большинство культурных растений требовательны к аэрации почвы, поэтому неустойчивы к затоплению и могут произрастать на переувлажненных и заболоченных почвах только после отвода поверхностных вод (мелиорация) или снижении уровня грунтовых вод. Устойчивость зерновых культур к избытку воды в почве можно повысить с помощью обработок растений синтетическими цитокининами (6-БАП), АБК (А.В. Платонов), хлорхолинхлоридом (ССС), никотиновой кислотой или сульфатом марганца. Благоприятным является внесение при затоплении нитратов. Наиболее эффективным является подбор более устойчивых к затоплению видов и сортов сельскохозяйственных растений. Сделаны попытки повышения устойчивости путем получения трансгенных растений. В качестве доноров генов устойчивости используют как растения, способные расти в анаэробной среде (аир), так и бактерии.

8.3. Гипотезы устойчивости к затоплению у растений.

Существуют гипотезы, согласно которым устойчивые к затоплению виды растений обладают рядом приспособлений:

— ограничивающих, прежде всего, спиртовое брожение, приводящее, как известно, к накоплению вредных для растений метаболитов — ацетальдегида и этанола. В клетках этих растений на заключительных стадиях гликолиза часть фосфоенолпировиноградной кислоты, взаимодействуя с CO_2, превращается при участии ФЕП-карбоксилазы в щавелевоуксусную кислоту, восстановление которой приводит к образованию яблочной кислоты — соединения, сравнительно безвредного для растений (Р. Крауфорд с сотрудниками);

—образующийся этиловый спирт, уксусный альдегид и молочная кислота у устойчивых к аноксии растений подвергаются метаболизации с превращением в менее токсичные соединения и частично выделяются в прикорневую среду. Продукты неглубокого распада углеводов довольно быстро используются на текущие нужды растения, в том числе на рост.

У ряда растений способность выдерживать недостаток кислорода связана:

— с наличием специальной воздухоносной ткани (аэренхимы);

— с образованием корней, возникающих из камбия и имеющих более развитую водопроводящую систему;

— с образованием чечевичек на корнях и некоторыми другими анатомо-морфологическими адаптациями.

При внезапном затоплении почвы, например, водами водохранилищ, более устойчивыми к избытку воды оказываются деревья тех насаждений, которые ранее подвергались затоплению. Это пример экологической адаптации.

Устойчивы к условиям избытка воды в почве растения болот, в частности, различные виды осок, пушиц, водяника, багульник, подбел и др. Сравнительно устойчивы к затоплению почвы такие сельскохозяйственные растения, как сахарный тростник, ячмень, овес, некоторые сорта томатов; очень устойчив рис.

Из древесных растений, устойчивых к затоплению, следует назвать мангровые деревья и кустарники (растут по берегам тропических морей и в устьях больших рек), болотный кипарис, многие виды ив, ольху черную и серую, ниссу болотную, некоторые виды

тополей, ясень пенсильванский и американский, дуб болотный и иволистный, гледичию водяную, ликвидамбр и некоторые другие.

Для повышения продуктивности лесов на избыточно увлажненных лесных почвах необходим:

— Отбор наиболее аэростойких форм и экотипов древесных пород, а также выведение новых.

— Мощным средством повышения плодородия заболоченных и избыточно увлажненных земель является гидротехническая мелиорация.

Продуктивность заболоченных лесов может увеличиваться при осушении в 2 — 5 раз. Формируется более широкое годичное кольцо древесины, в частности, за счет повышения активности фенилаланин-аммиак-лиазы, β-глюкозидазы и некоторых других ферментов, ответственных за биосинтез основных элементов ксилемной части ствола.

Эффективность гидротехнической мелиорации заболоченных лесов зависит от географического расположения объектов осушения, лесорастительных условий и, в первую очередь, от потенциального плодородия осушаемых лесов (С.Э. Вомперский).

Вопросы для самоконтроля

1. Влияние на растения избытка воды в почве.
2. Влияние на растения недостатка или отсутствия кислорода.
3. Гипотезы устойчивости к затоплению у растений.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

а) основная литература (библиотека СГАУ)

1. **Кошкин, Е. И.** Физиология устойчивости сельскохозяйственных культур : учебник / Е. И. Кошкин. - М. : Дрофа, 2010. - 638 с. : ил. - (Учебники и учеб. пособия для студентов высш. учеб. заведений). - ISBN 978-5-358-07798-0

2. Физиология и биохимия сельскохозяйственных растений : учебник / Н. Н. Третьяков [и др.]; ред. Н. Н. Третьяков. - М.: КолосС, 2005. - 656 с. : ил. - (Учебники и учеб. пособия для студентов высш. учеб. заведений). - ISBN 5-9532-0185-0

б) дополнительная литература

1. Биохимия: учебник / В. Г. Щербаков, В. Г. Лобанов, Т. Н. Прудникова. - 3-е изд., испр. и доп. - СПб. : ГИОРД, 2009. - 472 с. : ил. - ISBN 5-98879-008-9

2. Козьмина, Н. П. Зерноведение с основами биохимии растений : научное издание / Н. П. Козьмина, В. А. Гунькин, Г. М. Суслянок. - М. : Колос, 2006. - 464 с.: ил. - (Теоретические основы прогрессивных технологий: биотехнология). - ISBN 5-10-0039.

3. Основы биохимии: практикум / ФГОУ ВПО СГАУ, Факультет защиты растений и агроэкологии ; сост. С. В. Душехватов. - Саратов: ФГОУ ВПО "Саратовский ГАУ", 2009. - 80 с.

4. Физиология растений с основами экологии: учебное пособие / И. В. Сергеева, А. И. Перетятко. - Саратов: ФГБОУ ВПО "Саратовский ГАУ", 2011. - 344 с.: ил. - ISBN 978-5-7011-0740-1

Лекция 9.

ГАЗОУСТОЙЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ.

9.1. Влияние на растения загрязненности воздуха.

Несовершенное до сих пор использование в качестве энергетического химического, металлургического и иных ресурсов каменного угля, нефти, торфа, различных руд и других видов минерального сырья, отсутствие замкнутых циклов и средств очистки приводят к загрязнению воздуха вредными для растений газами, особенно сернистым и серным ангидридами, окисью углерода, фтором, хлором, парами соляной и синильной кислот. Загрязняют воздух автомобильный транспорт, предприятия стройматериалов и др.Сернистый и серный газы, проникая в мезофилл листа в токсических концентрациях, вызывают фотоокисление хлорофилла, хлороз, образуют сернистую и серную кислоты и тем самым резко изменяют рН клеточного сока листьев.

Одновременно нарушается деятельность ферментов, уменьшается стабильность биоколлоидов и мембран, ингибируется фотосинтез (как световые, так и темновые реакции), нарушается белковый и углеводный обмен в листьях, водный режим.

Растения сильно снижают свою продуктивность, урожайность, сопротивляемость к болезням и вредителям. При остром повреждении происходит коагуляция белков и других биоколлоидов, нарушения мембран и отмирание части или целого листа. Это подкисляющее действие сернистого ангидрида подтверждается тем фактом, что симптомы повреждений от него и ог фтористоводородной кислоты очень сходны. Возможно, что указанные вещества и другие газы вызывают образование в клетках свободных радикалов, резко нарушающих общий обмен веществ и энергии в растении.

Так у пораженной газом хвои фотосинтез резко понизился, тогда как интенсивность транспирации повысилась в связи с том, что отравление парализовало замыкающие клетки устьиц и вызвало их открывание. Известны и иные реакции. Газообразные токсиканты отрицательно влияют на плодоношение и семеношение древесных растений, завязавшиеся шишки у хвойных растений отличаются меньшими размерами, а семена — меньшей массой и худшей всхожестью. Вредное воздействие оказывают газы и на прорастание пыльцы, длину пыльцевых трубок.

Такие токсиканты, как окислы азота, озон, пероксиацетилнитрат и др., проникая в растение, действуют как сильнейшие окислители, прежде всего, на фосфолипиды мембран, органелли ЭПС клеток. В результате этого окисления мембраны теряют свои основные свойства, а клетки — свойственную им систему компартментов и структуру.

Обобщая изложенное, можно заключить, что воздушные токсиканты в критических дозах вызывают серьезные сдвиги входе физиологических процессов растений.

Но эти сдвиги могут быть обратимыми при небольших дозах и экспозициях. Высокие же дозы при длительном пребывании растений в среде с газообразными загрязнителями приводят к полной дисгармонии физиологобиохимических функций и отмиранию клеток и тканей.

9.2. Основные формы газо- и дымоустойчивости растений.

Ю.З. Кулагин выделяет следующие основные формы газо- и дымоустойчивости растений:

1) анатомо-морфологическая, связанная с особенностями строения покровных и внутренних тканей, препятствующих проникновению газов и их распространению по телу растения (ксероморфизм, плотное сложение внутренних тканей, пробка на побегах и стволах деревьев);

2) физиологическая, основанная на снижении активности газообмена, в частности, фотосинтеза, рефлекторном закрывании устьичных щелей и т. д.;

3) биохимическая, определяемая теми особенностями метаболизма, которые затрудняют или исключают повреждаемость ферментных систем и нарушения обмена веществ.

9.3. Чувствительность растений к различным вредным газам.

Из древесных растений: чувствительных к SO_2 и HF, следует назвать ель, лиственницу, сосну обыкновенную, орехи; из устойчивых — туи, можжевельник, дуб черешчатый, клен американский, бузину и некоторые другие (табл. 1).Сернистый и серный ангидриды, фтористо-водородная кислота, хлор и другие газы, скапливаясь в атмосфере, сильно подкисляют воду дождей.

Следует отметить, что особой чувствительностью к газам обладают лишайники. Уже одна сотая той концентрации SO_2, которая токсична для высших растений, сильно угнетает рост и развитие лишайников. Вот почему вокруг металлургических предприятий и в крупных городах лишайники встречаются весьма редко.

Из высших травянистых растений очень чувствительны к SO_2, люцерна, люпин, клевер, фасоль, салат, редис, томаты, ячмень, цинния и другие растения, а устойчивы — рапс, лук, кукуруза.

Очень страдают от HF гладиолусы, тюльпаны, нарциссы, шафран, кукуруза и мало повреждаются томаты, спаржа, пшеница, подсолнечник, алиссум, левкои, тагетесы, целлозия, некоторые астры, гайллардия, цинния и др.

В настоящее время «кислые дожди » создали очень сложную проблему не только в самих промышленно развитых странах, но и в соседних странах с менее развитой промышленностью. В частности, сильно ухудшилось состояние лесов, их продуктивность. Кроме того, эти дожди вмешиваются в почвообразовательные процессы, наносят урон плодородию почвы, подкисляют воды озер и рек, вызывают коррозию металлов, повреждение зданий и памятников и ряд других трудно предсказуемых явлений.

Повышенное содержание CO_2 также промышленного выброса, в несколько раз снижает повреждаемость растений сернистым ангидридом и окислами азота, что может найти практическое применение: на небольших площадях или около особо ценных растений в условиях аварийного выброса указанных токсикантов проводить тем или иным способом обогащение воздуха С02.

Отдельно следует сказать о твердых загрязнителях атмосферы — цементной пыли, окислах тяжелых металлов, сажи и др. При выпадении пыли в количестве 1,0 — 2,5 г на $1м^2$ поверхности почвы резко ослабляется фотосинтез и усиливается дыхание листьев в связи с повышением температуры более темных листьев, нарушается водообмен. Лесоводами отмечалось снижение в 2 раза скорости роста основных лесообразующих древесных пород вблизи цементных заводов, выбрасывающих пылеватые загрязнения. Резко падают декоративные свойства древесных растений в зоне действия пылеватых частиц.

Таблица 1. Чувствительность древесных растений и кустарников к действию вредных газов по данным разных авторов)

п/п*	Сернистый газ (острое воздействие)	Фтористоводородная кислота (острое воздействие)	Соляная кислота	Аммиак
1	Ель обыкновенная	Лиственница европейская	Ель обыкновенная	Сосна веймутова
	Сосна обыкновенная	Ель обыкновенная	Граб обыкновенный	Ольха
	Лиственница европейская	Орех грецкий	Ольха	Граб обыкновенный
	Береза пушистая	Сосна обыкновенная	Береза бородавчатая	Орех грецкий
	Береза бородавчатая	Барбарис обыкновенный		Каштан японский
	Клен остролистный	Виноград		
2	Сосна веймутова	Самшит	Лиственница европейская	Самшит
	Ель голубая	Ель голубая	Клен остролистный	Туя западная
	Граб обыкновенный	Сосна черная	Сосна обыкновенная	Бук лесной
	Липа мелколистная	Сосна веймутова	Можжевельник	Шиповник
	Ясень обыкновенный	Ольха серая	Дуб черешчатый	Сирень
	Тополя	Каштан конский	Бук лесной	Сосна обыкновенная
	Клен американский	Липа мелколистная		Ель обыкновенная
	Бук лесной	Малина		Ясень обыкновенный
	Рябина обыкновенная			Клен псевдоплатановый
3	Туи	Кипарисовик	Туя складчатая	Кипарисовик
	Самшит	Клен	Кипарисовик	Ель черная
	Дуб черешчатый	Шиповник	Ель голубая	Робиния
	Бузина черная	Бересклет европейский	Сосна черная	Форзиния
	Клен американский	Дуб черешчатый	Осина	
	Робиния	Бузина красная	Робиния	
	Акация желтая	Форзиния		
	Вяз гладкий			

п/п* — степень чувствительности: 1 — очень чувствительны; 2 — чувствительны; 3 — очень устойчивы

Замечено также повышение чувствительности древесных растений вблизи промышленных предприятий к грибным и вирусным заболеваниям, нападению энтомовредителей.

9.4. Механизмы газоустойчивости

В зависимости от механизмов, ее определяющих, газооустойчивость классифицируется как биологическая, анатомо-морфологическая и физиолого-биохимическая (рис. 1).

Биологические механизмы устойчивости связаны с межродовым и межвидовым разнообразием. Например, крестоцветные более устойчивы, чем бобовые, из бобовых фасоль более устойчива, чем клевер, соя и т.д.



Рис. 1. Механизмы газоустойчивости растений

Древесные растения (вяз, жимолость, клен) менее устойчивы по отношению к хлору, фтору, закиси азота, чем травянистые. У цветковых повреждаемость листьев зависит даже от их положения на побеге. Эфемеры, отличающиеся интенсивным обменом веществ и коротким вегетативным периодом, относятся к неустойчивым. Виды с более длительным вегетативным периодом лучше переносят условия загазованности. Культурным растениям свойственна большая чувствительность к загрязнению атмосферы по сравнению с дикими видами. Газоустойчивость зависит и от фазы развития, интенсивности роста, возраста растений, положения видов в эволюционной системе, от их эколого-географического происхождения и экологической пластичности.

Анатомо-морфологические признаки, способствующие повышению газоустойчивости, - это мощная кутикула, дополнительные восковые покровы, опушение, меньшая вентилируемость губчатой паренхимы, черты ксероморфности, в частности мелкие устьица.

Восковой налет на листьях создает водоотталкивающее покрытие, и грязь легко смывается водой. Восковой налет закрывает также устьичные щели, что повышает устойчивость к загазованности. У С4-растений клетки обкладки проводящих пучков создают барьер, препятствующий воздействию SO_2 на загрузку флоэмы ассимилятами.

Физиолого-биохимические приспособительные механизмы включают регулирование поступления газов, поддержание буферности цитоплазмы и ее ионного баланса, детоксикацию образующихся ядов. Регуляция поглощения газов определяется прежде всего чувствительностью устьиц. Под влиянием газов (особенно сернистого) растения газоустойчивых видов сами закрывают устьица. Например, у растений приспособленных видов при повышении концентрации газов степень открытости устьиц уменьшается на 40%, а у неприспособленных только на 11%.

Поддержание ионного баланса и буферных свойств цитоплазмы может быть связано с уровнем в клетках катионов (K^+, Na^+, Са4), способных нейтрализовать ангидриды кислот. Обычно растения, устойчивые к засухе, засолению и некоторым другим подобным воздействиям, имеют более высокую газоустойчивость, возможно благодаря способности регулировать водный режим и ионный состав. На это указывает усиление под влиянием сернистого газа признаков ксероморфности листьев, а под действием хлора признаков суккулентности.

Детоксикация газообразных ядов происходит в результате усиления фитонцидных выделений растений (эфирных масел), обладающих антисептическими свойствами. Это характерно, в частности, для некоторых видов устойчивых к сернистому газу древесных растений. У хвойных повышение уровня сернистого газа приводит к увеличению содержания эфирных масел в хвое. В условиях загазованности подобное обезвреживание ядовитых газов способствует поддержанию фотосинтеза и синтеза в целом на достаточно высоком уровне. У газоустойчивых растений обеспечивается сбалансированность фотосинтеза и оттока ассимилятов. Детоксикация газов может быть результатом и их химического преобразования. Так, в клетках сернистый газ после растворения может дать бисульфит или сульфит. Последний токсичен для растений, но при низкой концентрации метаболизируется хлоропластами до нетоксичного сульфата. При низкой концентрации эффективно обезвреживается и бисульфит, тогда сернистый газ может рассматриваться как источник серы для растения. Однако при повышенных концентрациях этого и других газов их повреждающее действие оказывается настолько сильным, что растения не могут обеспечить их детоксикации.

Как обычно, выделяют устойчивость пассивную, т.е. уход от воздействия с помощью, например, анатомо-морфологических особенностей, и активную – физиологическую способность мириться с поглощением газа или обезвреживать его. Для устойчивых растений характерны: пониженная интенсивность газообмена; высокая скорость метаболизма органических соединений и их транспорта; большая летальная доза при накоплении сернистого газа в клетках и способность к восстановлению обмена веществ; высокая экологическая пластичность. Поэтому в условиях загазованности у приспособленных растении сохраняются необходимый уровень фотосинтеза и дыхания, водный и ионный режимы, катионно-анионный баланс и в целом поддерживается нормальный уровень метаболизма.

Приобретенная газоустойчивость может передаваться по наследству. Например, лиственница японская, растущая вблизи вулканов, более устойчива к сернистому газу, чем европейская, что было установлено после испытания их гибридов. Сопряженная устойчивость проявляется и для газоустойчивых растении: они отличаются большей устойчивостью и к затемнению, засухе, засолению, ионизирующей радиации.

Для повышения газоустойчивости важен отбор видов, устойчивых в том числе и к другим воздействиям, например к засолению. Повышению уровня устойчивости способствует и выращивание растений на плодородных незагрязненных почвах или смена почвы на газонах и цветниках около промышленных предприятий. Обработка семян слабыми (0,1%-ными) растворами соляной и серной кислот и полив всходов подкисленной водой повышают газоустойчивость, как и периодическое смывание токсических соединений с листьев и нейтрализация известковыми и другими специальными растворами. Эффективны введение физиологически активных соединений, в том числе антиоксидантов - аскорбиновой кислоты, тиомочевины, гидрохинона и др., а также регуляция минерального питания, введение азота в виде мочевины. Несмотря на определенные успехи в исследовании газоустойчивости, общепринятой теории газоустойчивости в настоящее время пока не существует.

Вопросы для самоконтроля

1. Влияние на растения загрязненности воздуха.
2. Основные формы газо- и дымоустойчивости растений.
3. Чувствительность растений к различным вредным газам.
4. Механизмы газоустойчивости.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

а) основная литература (библиотека СГАУ)

1. **Кошкин, Е. И.** Физиология устойчивости сельскохозяйственных культур : учебник / Е. И. Кошкин. - М. : Дрофа, 2010. - 638 с. : ил. - (Учебники и учеб. пособия для студентов высш. учеб. заведений). - ISBN 978-5-358-07798-0

2. Физиология и биохимия сельскохозяйственных растений : учебник / Н. Н. Третьяков [и др.]; ред. Н. Н. Третьяков. - М.: КолосС, 2005. - 656 с. : ил. - (Учебники и учеб. пособия для студентов высш. учеб. заведений). - ISBN 5-9532-0185-0

б) дополнительная литература

1. Биохимия: учебник / В. Г. Щербаков, В. Г. Лобанов, Т. Н. Прудникова. - 3-е изд., испр. и доп. - СПб. : ГИОРД, 2009. - 472 с. : ил. - ISBN 5-98879-008-9

2. Козьмина, Н. П. Зерноведение с основами биохимии растений : научное издание / Н. П. Козьмина, В. А. Гунькин, Г. М. Суслянок. - М. : Колос, 2006. - 464 с.: ил. - (Теоретические основы прогрессивных технологий: биотехнология). - ISBN 5-10-0039.

3. Основы биохимии: практикум / ФГОУ ВПО СГАУ, Факультет защиты растений и агроэкологии ; сост. С. В. Душехватов. - Саратов: ФГОУ ВПО "Саратовский ГАУ", 2009. - 80 с.

4. Физиология растений с основами экологии: учебное пособие / И. В. Сергеева, А. И. Перетятко. - Саратов: ФГБОУ ВПО "Саратовский ГАУ", 2011. - 344 с.: ил. - ISBN 978-5-7011-0740-1

Лекция 10.

УСТОЙЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ К НАРУШЕНИЯМ МИНЕРАЛЬНОГО ПИТАНИЯ

10.1. Роль основных минеральных элементов в жизни растений.

Для нормального роста и развития растений необходимы определенные питательные элементы. Установлены 20-22 основных питательных элемента. Четыре элемента: углерод, кислород, водород и азот, называют органогенами или биогенами. Углерод в среднем составляет 45% сухой массы растительных тканей, кислород- 42%, водород - 6,5% и азот 2,5%, а все органогены вместе- до 95%. Оставшиеся 5% приходятся на зольные вещества.

Это макроэлементы: фосфор, сера, калий, кальций, магний, железо, алюминий, кремний и натрий. Элементы, содержание которых составляет 10-3-10-5% сухой массы, называют микроэлементами. К ним относятся марганец, медь, кобальт, цинк, молибден, бор, хлор.

Все эти элементы жизненно необходимы для растений, так как выполняют различные функции и не могут быть заменены другими элементами. Углерод, кислород и водород растения получают в виде углекислого газа и воды, поэтому их обычно не рассматривают в связи с минеральным питанием. Азот, фосфор и сера поглощаются растениями в виде минеральных или органических соединений гумуса, а остальные элементы - в виде минеральных солей. Азот выступает главным элементом для организмов, так как наряду с другими органогенами входит в состав почти всех важнейших органических веществ: нуклеиновых кислот, белков, аминокислот, амидов, липидов, АТФ, флавиновых и пиридиновых нуклеотидов, различных алкалоидов и других веществ.

Фосфор в первую очередь отвечает за энергетический обмен, является компонентом фосфолипидов и нуклеиновых кислот, а также участвует в регуляции активности белков (фосфорилирование/дефосфорилирование). Сера входит в состав сульфолипидов хлоропластов и очень важных аминокислот: цистеина, цистина и метионина. Цистеиновые остатки участвуют в поддержании вторичной, третичной и четвертичной структуры белков. Нередко цистеиновые группы включаются в активный центр ферментов, становятся важными компонентами железосерных белков- переносчиков электронов., и участвуют в детоксикации тяжелых металлов. Цистеин находится в составе трипептида глутатиона - важного звена антиоксдантной защиты. Метионин - предшественник фитогормона этилена и полиаминов, а также S-аденозилметионина, переносчика метильных групп.

Калий - один из самых необходимых элементов минерального питания растении. Его в тканях растений гораздо больше, чем других катионов. Именно калий вместе с протонами участвует в генерации мембранного потенциала у растений, в транспортных процессах через мембраны, в загрузке и разгрузке ксилемы и флоэмы, поглощении и транспорте воды по растению, регуляции работы устьичного аппарата. Калий входит в группу главных катионов, активаторов ферментативных систем. Известно более 60 ферментов, активируемых калием.

Кальций также участвует в регуляции активности ферментов. Кроме того, это важный вторичный посредник в трансдукпии различных сигналов. Поэтому очень велика его роль в регуляции роста и развития растений. С помощью кальция осуществляются сборки/разборки элементов цитоскелета, поэтому он необходим для секреции, циклоза и деления клеток. Взаимодействуя с отрицательно заряженными группами фосфолипидов и белков, ионы кальция стабилизируют мембрану и снижают ее пассивную проницаемость. К тому же кальций образует сшивки между карбоксильными группами пектиновых веществ

в клеточной стенке.

Роль магния важна прежде всего для нормального осуществления фотосинтеза. Он не только входит в состав хлорофилла, является кофактором целого ряда ферментов. Велико значение магния в фосфорном обмене или переносе. Железо тоже участвует в биосинтезе хлорофилла. Однако главная его функция состоит в окислительно-восстановительных превращениях, поскольку железо - главный металл гемсодержащих оксидаз. Кремний откладывается в клеточной стенке для упрочнения тканей растений.

Микроэлементы тоже выступают в качестве кофакторов различных ферментов. Медь, как и железо, участвует в окислительно-восстановительных реакциях. Молибден и кобальт - компоненты нитрогеназы и нитратредуктазы - играют важную роль в азотном обмене. Марганец включен в реакции фотолиза воды в фотосинтезе как активатор различных декарбоксилаз, ферментов циклов Кальвина и Кребса, нитратредуктазы, ДНК- и РНК-полимераз. Следует отметить уникальность цинка: только он активирует ферменты из всех шести классов: оксидоредуктазы, трансферазы, гидролазы, лиазы, изомеразы и синга зы. Важным микроэлементом, который необходим только для растений, является бор. Без бора невозможны ни рост, ни размножение растений. Этот элемент необходим для роста пыльцы, образования цветков и плодов, прорастания семян. Он участвует в обмене углеводов и фенолов, формировании клеточной стенки.

Большая группа соединений с атомной массой больше 50 относится к тяжелым металлам: никель, свинец, кадмий, ртуть, цинк и др.

10.2. Влияние избытка минеральных элементов на растение.

Высокий уровень какого-либо элемента в почве обычно приводит к его значительной аккумуляции в растениях.

Бобовые накапливают азот и молибден, злаки и хвощи - кремний, гречишные - цинк и марганец, вересковые - цинк, ивовые и розоцветные - никель, а крестоцветные - хлор, бром и натрий. Чайный куст и папоротники аккумулируют алюминий.

Существуют растения - селенолюбы, которые произрастают в местах, где в почве содержится большое количество селена. Этот элемент ядовит для большинства растений, а селенофиты не могут без него расти.

Другие растения - металлофиты аккумулируют различные металлы. Значительные различия между видами растений обнаруживаются в их отношении к кальцию. Существуют кальцефилы, которые растут на богатых кальцием почвах и накапливают его. Много кальция содержат бобовые, гречишные, крестоцветные, картофель, конопля, лиственница европейская и другие растения. Кальцефобы плохо растут при большом количестве кальция в почве. Обычно они обитают на болотах или в таких местах, где мало кальция.

Нитрофилы встречаются только на почвах, богатых соединениями азота. Но даже в обычных условиях они накапливают нитраты. Этим свойством обладает салат, кресс-салат, шпинат, табак, махорка и тыква.

Виды растений различаются по способности к накоплению конкретных элементов.

Растения, аккумулирующие элемент даже в условиях его относительного дефицита в почве, называются аккумуляторами. Виды, накапливающие элемент прямо пропорционально его уровню в среде, называются индикаторами. Их удобно использовать в биомониторинге. И наконец, растения, в которых уровень элемента длительное время остается на низком уровне даже при его избытке в среде, называются отражателями.

Накопление того или иного элемента в растении определяется целым рядом причин, прежде всего экологических, например содержанием различных веществ в почве. Кроме того, на аккумуляцию элементов действует генетический фактор. В процессе эволюции растения попадали в различные геохимические условия и на основе мутации, наследственности и естественного отбора формировались различные группы,

приспособленные к определенному составу почвы. Генетический фактор обусловливает состав и соотношение элементов в тканях растений. В условиях, когда нет избытка или недостатка элементов, генетический фактор действует очень четко. При избытке элемента в почве его аккумуляция определяется в основном экологической составляющей. Большое значение имеет pH среды. При низком pH увеличивается содержание в почве и поступление в растения алюминия, марганца. Содержание веществ в тканях зависит от возраста растения. К тому же те или иные части растения реагируют на увеличение концентрации элемента в почве поразному. Если поступление элемента прямо пропорционально его содержанию в окружающей среде, то такой тип накопления называется безбарьерным. Он в большей степени определяется концентрацией элемента, чем свойствами растений, и характерен для клеток коры корней, а также стебля. В листьях в основном отмечается барьерный тип. Наиболее консервативны по элементарному составу семена и в несколько меньшей степени плоды.

Поэтому даже на загрязненных почвах можно сеять зерновые культуры.

Влияние концентрации элемента в среде на интенсивность метаболизма и жизнеспособность зависит от его необходимости для растения. Кривая воздействия необходимых элементов - нутриентов, имеет куполообразную форму, характерную для нормального распределения. Жизнедеятельность осуществляется только в пределах оптимального содержания данного вещества, а вне пределов оптимума может нарушаться. Если элемент или вещество проявляет токсическое действие, график имеет иной вид. Пока уровень элемента не достигнет некоей пороговой концентрации, обмен веществ протекает нормально; как только порог преодолен, рост и метаболизм угнетаются. Если для вещества характерен первый тип концентрационной зависимости, оно является слаботоксичным, если второй, то токсичность его довольно высока. Степень токсичности соединений оценивают разными способами. Часто используется такой показатель, как предельно допустимая концентрация (ПДК), т.е. та концентрация вещества в окружающей среде, которая не вызывает негативного физиологического ответа. У супертоксинов ПДК вообще может не быть. Параметр "летальная доза" (ЛД) используется при однократном ударном действии токсина;

ЛДюо отражает 100%-ную гибель организмов, подвергнутых воздействию, ЛД50 •- 50%-ную.

При определении ЛД необходимо учитывать время действия, так как одни вещества очень токсичны, но быстро выводятся, а другие действуют медленно, но не выводятся. Тяжелые металлы, накапливаясь, тормозят рост корней, увеличивают проницаемость мембран, изменяют процессы вакуолизации цитоплазмы, повреждают процесс сборки микротрубочек, тормозят синтез ДНК, ингибируют процессы фотосинтеза и оттока ассимилятов и т.д.

Избыток нитратов задерживает формирование генеративных органов и созревание урожая. В значительной степени стимулируется рост вегетативной массы, в корнях накапливается много аминокислот, органических кислот и других окисленных соединений. Содержание углеводов, наоборот, уменьшается. Если растение не справляется с восстановлением нитратов, фотосинтез (особенно - у С3-растений) угнетается, а дыхание, наоборот, стимулируется. Нитраты и нитриты накапливаются в вакуолях. Образуются токсические соединения. Аммоний обычно не накапливается в свободном состоянии, хотя в виде солей яблочной кислоты содержится в вакуоли. Растения могут аккумулировать нитраты в больших количествах. Накапливаясь в вакуоли, они не причиняют особого вреда. В то же время у человека и животных нитраты и особенно нитриты вызывают синюшность, взаимодействуя с гемоглобином и ухудшая таким образом снабжение клеток кислородом.

Кроме того, нитриты после взаимодействия с аминами и амидами проявляют канцерогенные свойства.

Неразумное использование удобрений может приводить; и к другим неблагоприятным эффектам. Так, при использовании натриевой селитры $NaNO_3$ как основного источника азота поглощается в основном NO_3 , а натрий накапливается в почве. Сульфат аккумулируется при использовании $(NH_4)_2SO_4$, а NH_4NO_3 поглощается равномерно, не вызывая изменений в ионном балансе почвы.

10.3. Приспособление к избытку минеральных элементов.

При антропогенных воздействиях металлы (прежде всего тяжелые металлы - ТМ) аккумулируются на поверхности почвы и затем поступают в корни. Некоторые растения способны ограничивать накопление минеральных веществ благодаря механизмам, предотвращающим аккумуляцию ТМ (рис. 1). Эти механизмы действуют соответственно двум стратегиям выживания организмов при стрессовых воздействиях: или не допустить действия фактора, или обезвредить его. В случае эффективной работы указанных механизмов растение может расти и развиваться на почвах с высоким уровнем загрязнения металлами.

Один из путей состоит в предотвращении поступления металлов в клетку. Это достигается иммобилизацией ионов в клеточной стенке, ограничением транспорта ионов через плазмалемму вследствие изменения свойств ее трансфераз, а также с помощью лигандов, хелатирующих металлы, которые выделяются из клетки в окружающую среду. Такими лигандами могут быть органические кислоты, сахара, фенолы, пептиды. Осаждение ТМ может происходить на поверхности корня, например у растений, устойчивых к свинцу, меди, алюминию. Усиление эффективности хотя бы одного из этих механизмов может привести к повышению устойчивости растения к ТМ.



Рис. 1. Механизмы устойчивости к тяжелым металлам

При неэффективной работе указанных механизмов невозможно избежать попадания в клетку ТМ, тогда включаются внутриклеточные способы формирования металлотолерантности. Условно их можно разделить на две группы: механизмы детоксикации, или активного выведения ТМ, и те способы, которые позволяют клетке нормально функционировать в присутствии ТМ или быстро восстанавливать повреждения, вызванные ими. К первой группе относят образование физиологически неактивных форм металлов - органических комплексов или нерастворимых

неорганических соединений. Обезвреживание ТМ, например, у Alyssum, происходит при создании комплексов с органическими кислотами.

Этот гипераккумулятор способен накапливать в огромных количествах никель. При этом металл связан в слабо диссоциирующий растворимый комплекс с органическими кислотами - малатом и цитратом, в вакуоли. Подобным образом связывается с малатом цинк.

Комплексирование металлов с органическими кислотами необходимо также для транспорта металлов, например, в вакуоль. Существует и особый класс соединений, которые не встречаются в нормальных условиях, но образуются в ответ на накопление металлов, металлотионеины и фитохелатины. Металлотионеины представляют собой связывающиеся с металлами (в основном с медью и цинком) растворимые, низкомолекулярные белки (8-10 кД), в составе которых свыше 30% приходится на серосодержащие аминокислоты. Более простые соединения- богатые цистеином пептиды, взаимодействуя с металлами, образуют фитохелатины, связывающие кадмий, цинк, свинец. При образовании металлотионеинов и фитохелатинов тяжелые металлы инактивируются. Специфичности в соединении с тем или иным металлом не установлено. Комплексы с металлами способен давать и глутатион, благодаря которому происходит обезвреживание ртути и серебра. Наконец, железосодержащие белки - ферритины взаимодействуют с цинком, медью, кадмием, свинцом, бериллием, железом.

Детоксикации способствует и выведение ТМ из цитозоля в вакуоль, которое оказывается возможным благодаря изменениям свойств трансфераз тонопласта.

К внутриклеточным механизмам металлоустойчивости относят синтез ферментов, слабо чувствительных к металлам. Например, активность нитратредуктазы, МДГ, изоцитратдегидрогеназы повышается в толерантных к цинку растениях при внесении в питательную среду металлов в токсичных для чувствительных растений концентрациях. Реакция часто различается в зависимости от устойчивости растений к металлу. Так, у растений неустойчивых к цинку популяций Agrostis АТФаза ингибировалась под влиянием 3.10-4 моль/л соли, содержащей цинк, но у представителей устойчивых популяций в 10 раз активировалась. При действии свинца активность карбоангидразы у устойчивых популяций подавлялась в меньшей мере, чем у неустойчивых. Возможность формирования толерантности в результате активации альтернативных путей допускается, но этот вопрос пока изучен недостаточно.

Репаративные механизмы, способствующие восстановлению повреждений, связывают с индукцией синтеза ряда стрессовых белков, которые по молекулярной массе близки к БТШ. Растения, подвергшиеся тепловому шоку, проявляют повышенную устойчивость к летальным концентрациям алюминия, кадмия, железа. Вместе с тем кадмий индуцирует синтез БТШ70, а также способствует синтезу других БТШ небольшой молекулярной массы, которые, возможно, также играют роль в повышении устойчивости к ТМ.

Ни один из указанных механизмов не является универсальным. Вероятно, в формировании устойчивости играют важную роль и резервные возможности организма, и компартментация металлов, и связывание их в виде комплексов. Все это в совокупности позволяет растениям адаптироваться к повышенным концентрациям металлов.

10.4. Влияние недостатка минеральных элементов на растение.

Гораздо чаще растения попадают в условия минерального голодания. В целом повреждения, вызванные недостатком необходимых элементов, определяются их ролью в

жизнедеятельности растения. Замедляются рост и развитие, тормозится фотосинтез, стимулируется дыхание. Развивается мелколистность, угнетается образование боковых побегов и ветвей, падает продуктивность. Весьма любопытно, что при недостатке нутриентов развиваются черты ксероморфности. Замечено, что растения - представители олиготрофной флоры, живущие на очень бедных минеральными солями субстратах, даже

при нормальном обеспечении водой имеют мелкие жесткие листья, мелкоклеточность и целый ряд других специфических анатомических признаков, свидетельствующих о строгой экономии влаги. Таким образом, анатомо-морфологическая реакция на недостаток почвенного питания сходна с приспособлениями, возникающими в ответ на недостаток влаги или при действии других стрессоров.

Острая нехватка минеральных элементов вызывает деструктивные процессы. Разрушается хлорофилл, появляются хлорозы и некротические пятна. Часто дефицит каждого конкретного элемента имеет специфическую симптоматику. Самое раннее проявление недостатка азота - бледно-зеленая окраска листьев, вызванная ослаблением синтеза хлорофилла. Длительное азотное голодание приводит к значительному усилению гидролитических процессов и разрушению хлорофилла. Это происходит прежде всего в нижних, более старых листьях, откуда питательные вещества транспортируются к более молодым листьям и точкам роста. Вследствие разрушения хлорофилла нижние листья в зависимости от вида растения приобретают желтую, оранжевую или красную окраску, а при остром голодании появляются некрозы, ткани отмирают и высыхают. Специфические симптомы азотного голодания - сокращение периода вегетативного роста и ускоренное созревание семян. Сходные реакции наблюдаются при дефиците серы, а также микроэлементов, связанных с азотным обменом, т.е. молибдена и кобальта.

Внешне фосфорное голодание выражается в синевато-зеленой окраске листьев нередко с пурпурным или бронзовым оттенком, что оказывается следствием задержки синтеза белка и накопления Сахаров. Листья становятся не только мелкими, но и узкими. При дефиците фосфора в первую очередь страдают энергетические процессы: дыхание и фотосинтез. Значительная нехватка фосфора активирует распад фосфорорганических веществ, в том числе и нуклеиновых кислот.

При недостатке калия листья желтеют с краев, затем их края и верхушки приобретают бурую окраску и засыхают. Листья выглядят обожженными. Отмирают верхушечные почки, активируется рост боковых побегов, растение становится более кустистым. Значительные нарушения наблюдаются в водно-минеральном обмене и развитии проводящих тканей.

От недостатка кальция страдают в первую очередь меристематические ткани и корневая система. При делении клеток не формируется веретено деления, в результате возникают полиплоидные и многоядерные клетки. Увеличивается проницаемость мембран, нарушаются сшивки между пектиновыми веществами, что вызывает ослизнение клеточной стенки и отмирание клеток. В результате корни и участки стебля загнивают и отмирают. Края листьев вначале белеют, затем чернеют, листья скручиваются и отмирают.

Недостаток магния приводит к уменьшению поступления фосфора в растения, даже если содержание фосфора в почве находится на нормальном уровне. Поэтому повреждения при магниевом голодании, сходные с теми, что отмечаются при фосфорном. Кроме того, блокируется белковый и углеводный обмен, накапливаются моносахариды. Уникальность магния обусловлена его необходимостью для фотосинтеза. При дефиците магния не синтезируется хлорофилл, нарушается нарастание числа пластид, строма просветляется, ламеллярные образования распадаются на мелкие везикулы, клеток хлоренхимы становится меньше. Внешние симптомы следующие: между жилками появляются желтозеленые хлоротические пятна, а края листьев приобретают желтый, оранжевый или темнокрасный оттенок. На поздних стадиях магниевого голодания такая "мраморная" окраска появляется и на молодых листьях, что свидетельствует о разрушении пигментного аппарата. Зоны листа, прилежащие к сосудам, дольше остаются зелеными.

Недостаток кремния вызывает размягчение клеточной стенки, и растения чаще поражаются патогенными организмами.

Борное голодание отличается тем, что прежде всего отмирают конусы нарастания, нарушается углеводный и фенольный обмен. При недостатке железа и микроэлементов

появляются хлорозы, нарушается работа ферментных систем, происходят потеря тургора и завядание растений. Недостаток кобальта и молибдена затрагивает в первую очередь азотный обмен, железа и меди - окислительно-восстановительные процессы, марганца - нуклеиновый обмен, а цинка - дыхание и метаболизм фосфора.

При нехватке какого-либо элемента другие вещества, находящиеся в достаточном количестве, могут тормозить его поступление. Так, дефицит азота и цинка усугубляется фосфором, калия - азотом, фосфором и кальцием, недостаток кальция - цинком и железом, цинка и марганца - железом и медью и т.п. Бывает, что недостаток одного элемента вызывает недостаток другого. Нехватка молибдена и кобальта способствует развитию недостатка азота, снижение содержания калия, магния и цинка вызывает нарушения в фосфорном обмене, а дефицит цинка приводит к понижению уровня кальция, калия, магния и натрия.

10.5. Приспособления растений к недостатку минеральных элементов.

Недостаток необходимых минеральных веществ древние растения ощутили при выходе на сушу. Горные породы, на которых они росли, содержали много кремния и металлов, но азота, фосфора, серы и калия, которых было достаточно в морской воде, на суше оказалось мало. Более того, эти важнейшие питательные вещества на суше были рассеяны, а не сконцентрированы в определенных местах. Растениям было необходимо обнаружить нужные элементы и использовать их. Для поглощения минеральных веществ и воды у растений появился корень как специализированный орган почвенного питания. Самыми дефицитными элементами были азот, фосфор, калий и железо. NPK - главный компонент любых комплексных удобрений.

Азот - самый востребованный элемент в биосфере, за него обычно идет конкуренция. Азота много в земной коре, но для растений доступно только 0,5-2% общего запаса этого элемента в почве. Атмосферный азот недоступен растениям, не имеющим в качестве симбионтов организмов, способных его поглощать. Неорганические формы азота хорошо растворимы, но легко вымываются из почвы. Для растительных организмов азот - самый дефицитный элемент.

Запасы почвенного фосфора также не велики. К тому же большая часть фосфорных соединений плохо растворяется в воде. С одной стороны, это усугубляет положение растений, а с другой - снижает потери фосфора вследствие вымывания. Органические соединения азота и фосфора - компоненты гумуса, тоже предохраняют эти элементы от вымывания.

Запасы калия в почве относительно велики: они в 8-40 раз больше, чем фосфора, и в 5-50 раз, чем азота. Тем не менее все соединения калия легкорастворимы и очень мобильны. Железо в силу плохой растворимости солей тоже относится к дефицитным элементам, особенно на карбонатных почвах.

В ответ на дефицит нутриентов у растения интенсифицируется рост корней и увеличивается их количество. Это установлено при фосфорном и железном голодании растений фикуса и люпина. Как известно, корни обладают положительным гидро- и хемотропизмом. Если посадить растение в инертный субстрат и в определенное место положить кристалл питательной соли, то корни растения будут расти в направлении к этому кристаллу, что указывает на положительный хемотропизм. В то же время если вместо нутриента поместить токсичное вещество, корень будет расти в противоположном направлении. Это пример отрицательного хемотропизма.

На корнях в зоне поглощения образуется много корневых волосков. В мембранах клеток ризодермы увеличивается число систем транспорта ионов: ионных насосов, белков-переносчиков и каналов и повышается их активность, т.е. поглощение ионов регулируется и на уровне генной экспрессии. Соединения фосфора и железа хуже всего растворяются в щелочной среде. Именно на щелочных карбонатных почвах растения

испытывают сильный дефицит фосфора и особенно железа. Поэтому выделение протонов ризодермой способствует переводу этих и других соединений в более доступные для растения формы. Помимо протонов ризодерма выделяет различные анионы, в основном анионы органических кислот. Последние вытесняют анионы минеральных кислот из почвенного поглощающего комплекса, способствуя закислению среды, а также принимают активное участие в хелатировании трудно растворимых или прочносвязанных металлов. Кроме того, растворимость солей некоторых металлов зависит от степени окисления металла. Так, в почве содержатся главным образом плохо растворимые соли трехвалентного железа, тогда как соли двухвалентного железа лучше растворяются в воде. Растения поглощают железо на основе хелатирования и восстановления $Fe3+ \rightarrow Fe2+$. Этот процесс хорошо изучен у цветковых растений.

Существует две стратегии поглощения железа. Стратегия I характерна для всех двудольных и однодольных, кроме злаков и, возможно, ситниковых и осок. У растений при дефиците железа замедляются рост и утолщение корня, образуется очень много корневых волосков. Клетки ризодермы формируют лабиринтообразные инвагинации в клеточную стенку, как у клеток-спутников во флоэме или у секреторных клеток в солевых железках. Центральная вакуоль в этих клетках исчезает, формируется много маленьких вакуолей и увеличивается количество митохондрий. В мембранах клеток ризодермы возрастает количество белков-переносчиков, протонных помп, а также комплексов НАДФ-оксидоредуктазы. При поглощении железа активируется выделение протонов в ризосферу, что способствует увеличению растворимости железа. Стимулируется также секреция хелаторов, в первую очередь лимонной и яблочной кислот. Эти соединения хелатируют железо из почвенного поглощающего комплекса и проникают обратно в клеточную стенку. Далее на внешней стороне плазмалеммы Fe3+ восстанавливается НАДФ-редуктазой в Fe2+, поступает в клетку, а хелатор высвобождается обратно в почвенный раствор. Этот способ мобилизации железа достаточно эффективен, но неспецифичен, так как анионы органических кислот хелатируют не только железо, но и

другие поглощаемые корнем металлы. К хелаторам, выделяемым растениями и способствующим поглощению ионов железа, относится и рибофлавин. В форме хелатов двухвалентные ионы железа хорошо растворимы и поглощаются растением.

Стратегия II обнаружена у злаков. Корни злаков выделяют специализированные хелаторы - фитосидерофоры. Это непротеиногенные полиаминокислоты, которые синтезируются из метионина. Вначале образуется никотинамин, конденсация двух молекул нико тинамина дает фитосидерофор-дезоксимугинеевую кислоту, из нее образуется мугинеевая, или овсяная, кислота. Фитосидерофоры, хелатирующие железо из почвенных коллоидов, проявляют к нему достаточно высокое сродство, кроме него они образуют комплексы с Cu2+, Zn2+ и Co2+. С другими катионами: Ca2+, Mg2+ Al3+ и др., фитосидерофоры комплексов не формируют. После образования хелата он поглощается корнем. Переносчик проявляет активность преимущественно к комплексу Fe3+-фитосидерофор. Интенсивность поглощения комплексов с медью, цинком и кобальтом невелика. Попав в корень, трехвалентное железо в комплексе с фитосидерофором транспортируется в побег, где восстанавливается и включается в обмен. Синтез фитосидерофоров запускается только при недостатке железа. Стратегия II позволяет злакам достаточно легко, без затрат энергии на восстановление и в кратчайшие сроки ликвидировать дефицит железа в тканях.

Известен еще один способ решения проблемы дефицита элементов питания - секреция в ризосферу ферментов. Для минерального питания наиболее важны нитратредуктаза, участвующая в восстановлении нитрата, и фосфатаза, которая в кислой среде гидролизует нерастворимые полифосфаты почвы, переводя их в активное состояние.

В качестве приспособления к недостатку минеральных элементов следует рассматривать и создание запасов на "черный день", своеобразный вариант стратегии избежания стрессов. Азот откладывается в виде амидов и запасных белков. Кроме того,

при сильном голодании возможна и мобилизация азота из вторичных азотсодержащих метаболитов, например алкалоидов. Фосфор запасается в виде конденсированных фосфатов, фитина, фосфо- и нуклеопротеидов. Фитин служит удобной запасной формой и для кальция и магния. Железо и микроэлементы "хранятся" обычно в комплексе с белками. Так, белок ферритин, имеющий много гидроксигрупп, часть из которых фосфорилирована, способен связывать до 6000 атомов железа. Ферритин представляет собой белковый цилиндр, внутри которого находится гидроксид железа. Это позволяет клетке накапливать большие концентрации металла, "не опасаясь" его токсического действия. Микроэлементы запасаются с помощью белков-металлотионеинов. Таким образом, эти белки участвуют не только в инактивации тяжелых металлов, но и в депонировании минеральных веществ.

Растения - автотрофные организмы, в ходе фотосинтеза и почвенного питания они поглощают неорганические вещества и синтезируют из них органические. Немногие растения (сапрофиты, паразиты и насекомоядные) относятся также к факультативным или облигатным гетеротрофам, получающим органические вещества из внешней среды. Сапротрофы (сапрофиты) питаются органическими веществами разлагающихся остатков растений и животных, паразиты - органическими веществами живых существ. Большинство высших растении имеет ряд приспособлений к использованию не только минеральных, но и органических субстратов, т.е. к гетеротрофному питанию, например, при прорастании семян, клубней, луковиц и др. При выращивании растений на органических удобрениях даже в стерильных условиях их продуктивность может быть выше, чем на эквивалентном по элементному составу минеральном субстрате.

Объясняется это не только необходимостью энергетических трат на восстановление и включение веществ в органические соединения, но и другими причинами. Так, гуминовые кислоты - слабые поверхностно-активные вещества, т.е. детергенты, большей частью способны проникать через плазмалемму.

По представлениям некоторых специалистов, гуминовые кислоты могут поступать почти целиком внутрь растительной клетки, перенося много различных элементов: металлы, органический азот, фосфор и серу. Кроме того, эти вещества, имеющие углеродный скелет, могут снова вовлекаться в обмен.

В экспериментах по применению искусственных поверхностно-активных веществ повышается усвоение и органических, и минеральных удобрений. Растения могут поглощать мономерные органические вещества: сахара, некоторые аминокислоты, витамины, из почвы. В частности, витамин В12, который не синтезируется растениями, они поглощают из почвы, где его образуют бактерии.

В большинстве случаев высшие растения, оставаясь зелеными автотрофными организмами, получают дополнительное азотное питание благодаря симбиотическим отношениям с грибами и/или бактериями, которые поселяются в ризосфере или непосредственно в корнях. И наконец, хищные или насекомоядные растения, обитающие обычно в условиях крайнего дефицита минеральных веществ: на болотах или в пресных водоемах, проблему дефицита азота и фосфора или органических соединений решают, поедая насекомых, ракообразных, инфузории и др. Таким образом, проблема дефицита элементов минерального питания решается растениями самыми разнообразными способами: от усиления воздействия на почву до образования ассоциаций с другими организмами и даже перехода на гетеротрофный способ питания.

Вопросы для самоконтроля

1. Роль основных минеральных элементов в жизни растений.
2. Влияние избытка минеральных элементов на растение.
3. Приспособление к избытку минеральных элементов.
4. Влияние недостатка минеральных элементов на растение.

5. Приспособления растений к недостатку минеральных элементов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

а) основная литература (библиотека СГАУ)

1. **Кошкин, Е. И.** Физиология устойчивости сельскохозяйственных культур : учебник / Е. И. Кошкин. - М. : Дрофа, 2010. - 638 с. : ил. - (Учебники и учеб. пособия для студентов высш. учеб. заведений). - ISBN 978-5-358-07798-0

2. Физиология и биохимия сельскохозяйственных растений : учебник / Н. Н. Третьяков [и др.]; ред. Н. Н. Третьяков. - М.: КолосС, 2005. - 656 с. : ил. - (Учебники и учеб. пособия для студентов высш. учеб. заведений). - ISBN 5-9532-0185-0

б) дополнительная литература

1. Биохимия: учебник / В. Г. Щербаков, В. Г. Лобанов, Т. Н. Прудникова. - 3-е изд., испр. и доп. - СПб. : ГИОРД, 2009. - 472 с. : ил. - ISBN 5-98879-008-9

2. Козьмина, Н. П. Зерноведение с основами биохимии растений : научное издание / Н. П. Козьмина, В. А. Гунькин, Г. М. Суслянок. - М. : Колос, 2006. - 464 с.: ил. - (Теоретические основы прогрессивных технологий: биотехнология). - ISBN 5-10-0039.

3. Основы биохимии: практикум / ФГОУ ВПО СГАУ, Факультет защиты растений и агроэкологии ; сост. С. В. Душехватов. - Саратов: ФГОУ ВПО "Саратовский ГАУ", 2009. - 80 с.

4. Физиология растений с основами экологии: учебное пособие / И. В. Сергеева, А. И. Перетятко. - Саратов: ФГБОУ ВПО "Саратовский ГАУ", 2011. - 344 с.: ил. - ISBN 978-5-7011-0740-1

Лекция 11.

СОЛЕУСТОЙЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ.

11.1. Солеустойчивость.

На земном шаре около 25 % почв содержат избыток солей (до нескольких процентов). Засоленность почвы наносит большой урон сельскому хозяйству. Наиболее распространены в засоленных почвах сода, глауберова соль, поваренная соль. Соответственно различают содовое, сульфатное и хлоридное засоление. В связи с тем, что в природе преобладает засоление, вызванное несколькими солями, говорят о комплексном засолении, например, сульфатно-хлоридном, хлоридно-сульфатном, сульфатносодовом, хлоридно-содовом и т. д.Лишь очень приспособленные виды растений могут произрастать насильно засоленных почвах, солончаках и солонцах, а также по берегам морей и других соленых водоемов. Культурные растения и большинство древесных пород не приспособлены к условиям засоленных почв. На солончаках они не растут вовсе или растут крайне плохо.

11.2. Реакции растений на засоление.

Отрицательное влияние засоления почвы проявляется, прежде всего, в том, что:

— с увеличением концентрации почвенного раствора ухудшается водоснабжение растений, а при равенстве осмотических давлений раствора и клеток корня всасывание воды становится вообще невозможным.

— Наряду с осмотическим действием избыток солей оказывает и токсическое влияние на растения.

Чрезмерное накопление солей в клетках растений вызывает целый ряд нарушений в обмене веществ и энергии. Особенно сильное отрицательное влияние оказывает катион натрия, несколько менее ядовиты анионы хлора, сульфата. Растения перегружаются непитательными солями. Это приводит к нарушению оптимальных соотношений основных необходимых минеральных элементов, особенно калия и кальция, отрицательно действует на поглощение макро- и микроэлементов корнями. Часто наблюдается сульфатное голодание у растений, произрастающих на почвах с хлоридным засолением.

Засоление вызывает большие изменения в процессе фотосинтеза. Существенные нарушения претерпевает азотный обмен: в условиях засоленных почв замедляется синтез белков, усиливается их распад, происходит накопление ряда промежуточных продуктов азотного обмена — путресцина, кадаверина и некоторых других, являющихся ядами для цитоплазмы клеток. На засоленном фоне у растений приостанавливается синтез ДНК. Существенные изменения происходят и в энергетическом обмене, особенно в процессах окислительного фосфорилирования.

В особо сложных ситуациях происходит разобщение плазмодесм и нарушение межклеточных связей и, следовательно, взаимосвязи и согласованности физиологических процессов. Все это ведет к торможению или полному прекращению процессов роста.

Следует отметить, что все эти и ряд других особенностей обмена веществ у растений на засоленных почвах проявляются по-разному в зависимости от общего содержания солей и от разнокачественности засоления. Эти изменения начинаются от прорастания семян и заканчиваются на поздних этапах развития растений.

11.3. Особенности приспособления растений к условиям засоления

Недавно Д. Пастернак выдвинул обобщенное представление о наличии 2-х принципиальных механизмов ащиты растений от воздействия избытка солей в почве.

1. Защита тканей растения от обезвоживания. Реализуется с помощью 3-х основных способов:

— снижение потерь воды за счет уменьшения зияния устьиц, большего развития кутикулы, уменьшения числа устьиц на единицу поверхности листа и т. д.;

— повышения отношения корни — побеги, когда лучше используется влага почвы (больше поглощается и меньше теряется в процессе транспирации,— оптимизации процессов осморегуляции.

2. Защита тканей от ионной токсичности. Три основных способа характерны и для этого механизма защиты растений от засоления:

— селективное поглощение ионов почвенного раствора и их транспорта по растению;

— защита ферментов и биологических мембран с помощью органических веществ, связывающих вредные ионы;

— локализация указанных ионов в специальных компартментах клеток.

Самыми солеустойчивыми дикорастущими растениями являются галофиты (ог греческих слов гальс — соль, фитон — растение) — обитатели солончаков и солонцов.

Различают 4 основные группы галофитов:

1. Настоящие, и \ или соленакапливающие, галофиты, выносящие наличие большого количества солей в своих тканях. Присутствие солей для них стало физиологической потребностью. Это наиболее солеустойчивые растения — солерос, сведа, селитрянка и др. Благодаря высокому осмотическому давлению клеточного сока (до 200 атм) эти солянки способны поглощать воду из сильно концентрированного почвенного раствора.

2. Солевыделяющие галофиты, отличающиеся способностью выделять избыток солей через устьица или особые солевыделительные железки. К ним относятся кермек, френкелия, тамарикс и др.

3. Соленепроницаемые галофиты, цитоплазма клеток которых малопроницаема для солей, а высокое осмотическое давление клеточного сока создается у них за счет, главным образом, фотоассимилятов. Это некоторые виды кохии, солончаковая полынь.

4. Солелокализирующие галофиты. Примером является лебеда татарская. Соли проникают через цитоплазму клеток корней этих растений, доходят до листьев и локализуются здесь в особых пузыревидных волосках, сплошным слоем покрывающих нижние и верхние стороны листьев. Волоски образуются только в том случае, если лебеда произрастает на засоленной почве, а на незасоленных почвах они отсутствуют.

Солеустойчивость сельскохозяйственных и древесных растений сравнительно низка. Наиболее приспособленные к избытку солей в почве культурные растения вырабатывают ряд адаптивных признаков и свойств.

Прежде всего, многими исследователями отмечается общее снижение интенсивности обмена веществ, связывание минеральных веществ органическими, в частности, гидрофильными белками — альбуминами, которые предохраняют цитоплазму от коагулирующего действия электролитов. Предполагают, что альбумины стабилизируют работу хлоропластов, нейтрализуют ядовитые свойства поступающего в ткани хлор иона или переводят его в малоактивное состояние, связывают избыток других нежелательных элементов.

Чрезвычайно интересна экология мангровых деревьев. Эти растения приспосабливаются к высокому содержанию солей в засоленном иле морских заливов и лагун тропиков, буквально, будучи еще на материнском растении. Единственное семя их плода, получая от материнского растения соли и продукты фотосинтеза, прорастает на дереве. В это время проростки адаптируются к высокому содержанию солей, становятся более солеустойчивыми. Падая на засоленный ил, они продолжают быстро развиваться в самостоятельные сеянцы.

Мангровые деревья поглощают соли избирательно, в первую очередь малотоксичные. Избыток ионов, главным образом, хлора и натрия, удаляется через особые устьица на листьях. Концентрация этих выделений выше, чем в воде океанов и морей.

Известно, что мангровые древесные растения относятся к C_4 -типу фиксации CO_2. Достаточно солеустойчивы бурые, багряные и другие морские водоросли, осуществляющие фотосинтез этим же путем. Напрашивается предположение о том, что и другие C_4-растения должны отличаться повышенной солеустойчивостью.

Из культурных растений относительно высокой солеустойчивостью обладают хлопчатник, люцерна, сахарная свекла, кукуруза, тыква, огурцы, арбузы и некоторые другие.

— Солеустойчивыми древесными породами считаются саксаул черный, ясень зеленый и приречный, гледичия, айлант, акация белая, туранга, берест, софора, вяз перистоветвистый, лох, маклюра, дуб, сосна эльдарская, кейлейтерия, платан и некоторые другие, а из кустарников — тамарикс, селитрянка, поташник, соляноколос ник, жимолость татарская, олеандр, чингил, аморфа, бирючина, дрок испанский.

— Достаточно солевыносливыми можно считать и ряд плодовых культур шелковицу, абрикос, грушу, алычу, айву, виноград, гранат, финиковую пальму.

11.4. Пути повышения устойчивости к засолению.

Повышение солеустойчивости растений — фактор получения стабильных урожаев сельскохозяйственных культур. Вместе с тем физиологически обоснованных приемов повышения устойчивости культурных растений к соли мало. В настоящее время можно применять метод солевой закалки, разработанный П. А. Генкелем. Автор предлагает проводить предпосевную обработку семян некоторых культур растворами солей — NaC1, $MgSO_4$ и Na_2CO_3 соответственно для повышения устойчивости к действию хлоридного, сульфатного и содового засоления. Можно выделить и такие методы, как обработка растений физиологически активными веществами (ретардантами, антитранспирантами, ауксинами, гиббереллинами и др.); изменение условий минерального питания; отбор солеустойчивых растений, проводимый методами селекции, включая мутагенез и генную инженерию. Одним из существенных достижений в этой области является работа Е. Эпштейна, на основании результатов которой был выведен солеустойчивый сорт ячменя. Важны селекционные и физиологические исследования на основе методов клеточных и тканевых культур.

Методы по увеличению устойчивости к засолению путем модификации состава питательной среды наиболее многочисленны и перспективны. Повышение уровня минерального питания в среде снижает торможение поглощения необходимых элементов и заметно уменьшает накопление засоляющих ионов. Однако не все культуры становились более устойчивыми. Например, в условиях умеренного засоления повышенные дозы нитратов оказывали положительное влияние на рост и урожай томата, но снижали устойчивость кукурузы, хлопчатника и пшеницы. То же относится и к таким элементам, как кальций и натрий. Изменение соотношения натрия к кальцию в субстрате зависит от видовых и сортовых особенностей растений.

Следовательно, одним из наиболее реальных способов снижения токсического действия высоких концентраций минеральных солей на растения является подбор наилучших соотношений между ионами Са, №, К, нитратов и др. (Б. П. Строганов, 1973;

А. Е. Петров-Спиридонов, 1976).

Солеустойчивость растений можно определить прямыми и косвенными методами. Прямые — выращивание растений в засоленной среде с учетом энергии прорастания семян по проценту всхожести и т. д. Косвенные (лабораторные) — определение скорости открывания устьиц и степени выцветания хлорофилла в солевом растворе, по содержанию альбуминов в зеленых листьях и др.

При борьбе с засоленностью следует применять такие агротехнические приемы, как гипсование почв, химическая мелиорация.

Вопросы для самоконтроля

1. Солеустойчивость.
2. Реакции растений на засоление.
3. Особенности приспособления растений к условиям засоления.
4. Пути повышения устойчивости к засолению.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

а) основная литература (библиотека СГАУ)

1. **Кошкин, Е. И.** Физиология устойчивости сельскохозяйственных культур : учебник / Е. И. Кошкин. - М. : Дрофа, 2010. - 638 с. : ил. - (Учебники и учеб. пособия для студентов высш. учеб. заведений). - ISBN 978-5-358-07798-0

2. Физиология и биохимия сельскохозяйственных растений : учебник / Н. Н. Третьяков [и др.]; ред. Н. Н. Третьяков. - М.: КолосС, 2005. - 656 с. : ил. - (Учебники и учеб. пособия для студентов высш. учеб. заведений). - ISBN 5-9532-0185-0

б) дополнительная литература

1. Биохимия: учебник / В. Г. Щербаков, В. Г. Лобанов, Т. Н. Прудникова. - 3-е изд., испр. и доп. - СПб. : ГИОРД, 2009. - 472 с. : ил. - ISBN 5-98879-008-9

2. Козьмина, Н. П. Зерноведение с основами биохимии растений : научное издание / Н. П. Козьмина, В. А. Гунькин, Г. М. Суслянок. - М. : Колос, 2006. - 464 с.: ил. - (Теоретические основы прогрессивных технологий: биотехнология). - ISBN 5-10-0039.

3. Основы биохимии: практикум / ФГОУ ВПО СГАУ, Факультет защиты растений и агроэкологии ; сост. С. В. Душехватов. - Саратов: ФГОУ ВПО "Саратовский ГАУ", 2009. - 80 с.

4. Физиология растений с основами экологии: учебное пособие / И. В. Сергеева, А. И. Перетятко. - Саратов: ФГБОУ ВПО "Саратовский ГАУ", 2011. - 344 с.: ил. - ISBN 978-5-7011-0740-1

Лекция 12.

УСТОЙЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ К ТЯЖЁЛЫМ МЕТАЛЛАМ.

12.1. Поглощение тяжелых металлов растениями. Содержание ТМ в почвах и растениях.

К тяжёлым металлам относится медь, цинк, марганец, железо, никель и другие металлы, в небольших количествах необходимые растениям. Среди тяжёлых металлов, неотносящихся к необходимым питательным элементам, наиболее распространены кадмий и свинец. Загрязнение ими среды происходит в результате:

1) сжигания жидкого и твёрдого топлива;
2) выбрасов металлоплавильного производства;
3) сбросов сточных вод, содержащих свинец и кадмий в повышенных количествах;
4) внесения в почву удобрений и химикатов.

Проникая в клетки, тяжёлые металлы взаимодействуют с функциональными грппами белков, нуклеиновых кислот, полисахаридов. В результате возникают различные нарушения обмена веществ.

Тяжёлые металлы поступают в растения главным образом из почвы через корневую систему. Кадмий и свинец могут поступать в растения через листья, и тем интенсивнее, чем сильнее опушённость листьев. У целого ряда видов выявлена относительно высокая концентрация кадмия и свинца в клеточных стенках. Причём свинец прочнее связывается с клеточными стенками, чем кадмий, и медленнее передвигается по апопласту. Внутри клеток большая часть кадмия и свинца находится в вакуолях. Отложение металлов в вакуолях приводит к выведению их из цитоплазмы и может рассматриваться одним из механизмов детоксикации. Однако основное количество тяжёлых металлов связывается с полигалактуроновыми кислотами и различными соединениями в вакуолях. Благодаря этому концентрация металлов в цитоплазме уменьшается во много раз. Предполагается, что устойчивость растений к тяжёлым металлам может быть в значительной степени обусловлена именно эффективным исключением их из цитоплазмы.

Растения по способности накапливать металлы (Е.И. Кошкин, 2010)

разделены на три группы:

1) аккумуляторы, накапливающие металлы главным образом в наземной сфере при низкой и высокой концентрации их в почве;

2) индикаторы, концентрация металла в которых отражает его концентрацию в окружающей среде;

3) исключители, несмотря на высокую концентрацию металлов в окружающей среде, поддерживают низкую концентрацию их в побегах. Растения большинства видов полевых культур относятся к исключителям, накапливающим тяжёлые металлы в подземной сфере.

12.2. Токсическое действие тяжелых металлов.

Токсическое действие тяжёлых металлов проявляется прежде всего в инактивации большинства ферментов. Устойчивость отдельных ферментов и активация ферментных систем, мажет быть одной из возможных причин нечувствительности растений к избытку тяжёлых металлов. Тяжёлые металлы существенно нарушают водный обмен растения:

1) уменьшается площадь листьев;
2) уменьшаются размеры устьичных клеток;
3) уменьшается содержание тургорогенов и пластичность клеточных стенок;
4) увеличивается содержание АБК, индуцирующая закрывания устьиц.

Под действием тяжёлых металлов изменяются структуроно-функциональные параметры фотосинтеза: уменьшается содержание хлорофилла в листьях ряда зерновых

культур при действии высоких концентраций свинца и кадмия. Главной причиной снижения содержания зелёных пигментов в присутствии тяжёлых металлов является подавление биосинтеза хлорофилла, связанное в первую очередь с непосредственным действием металлов на активность ферментов биосинтеза.

Тяжёлые металлы вызывают разнообразные изменения метаболизма. В ответ на поступление металлов происходит активация различных систем защиты, направленных на поддержание гомеостаза. К таким системам относятся (Е.И. Кошкин, 2010):

1) активация ферментов стресса – каталазы, пероксидазы;
2) суперпродукция осмолитов в ответ на металл – индуцированный водный стресс;
3) измеление физико-химических свойств клеточных стенок;
4) изменение гормонального баланса;
5) синтез металлсвязывающих соединений и стрессовых белков.

Все эти защитные механизмы обеспечивают выживание организма и его адаптацию в изменившихся условиях окружающей среды. Многие из этих механизмов (1 – 4) являются не специфическими и характерны для действия различных стресс-факторов.

12.3 Фиторемедиация.

Восстановление экосистем при помощи растений – фиторемидиация используется на практике для очистки окружающей среды от тяжёлых металлов. Считается, что очистка при помощи растений экономичнее и наносит меньше ущерб окружающей среде по сравнению с существующими физическими и химическими методами мелеорации почвы. Например, в США на практике применяется фитоэкстрация свинца, при этом стоимость очистки при помощи растений может составлять всего 5 % затрат необходимых для других способов восстановления экосистем загрязненными металлами.

Следует подчеркнуть, что в ближайшей перспективе тенденция к ухудшению состояния окружающей среды сохранится. В связи с этим нарастает необходимость совершенствования механизмов адаптации растений к этим условиям.

Вопросы для самоконтроля

1. Поглощение тяжелых металлов растениями.
2. Содержание ТМ в почвах и растениях.
3. Токсическое действие тяжелых металлов.
4. Фиторемедиация.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

а) основная литература (библиотека СГАУ)

1. **Кошкин, Е. И.** Физиология устойчивости сельскохозяйственных культур : учебник / Е. И. Кошкин. - М. : Дрофа, 2010. - 638 с. : ил. - (Учебники и учеб. пособия для студентов высш. учеб. заведений). - ISBN 978-5-358-07798-0

2. Физиология и биохимия сельскохозяйственных растений : учебник / Н. Н. Третьяков [и др.]; ред. Н. Н. Третьяков. - М.: КолосС, 2005. - 656 с. : ил. - (Учебники и учеб. пособия для студентов высш. учеб. заведений). - ISBN 5-9532-0185-0

б) дополнительная литература

1. Биохимия: учебник / В. Г. Щербаков, В. Г. Лобанов, Т. Н. Прудникова. - 3-е изд., испр. и доп. - СПб. : ГИОРД, 2009. - 472 с. : ил. - ISBN 5-98879-008-9

2. Козьмина, Н. П. Зерноведение с основами биохимии растений : научное издание / Н. П. Козьмина, В. А. Гунькин, Г. М. Суслянок. - М. : Колос, 2006. - 464 с.: ил. - (Теоретические основы прогрессивных технологий: биотехнология). - ISBN 5-10-0039.

4. Физиология растений с основами экологии: учебное пособие / И. В. Сергеева, А. И. Перетятко. - Саратов: ФГБОУ ВПО "Саратовский ГАУ", 2011. - 344 с.: ил.

Лекция 13.

УСТОЙЧИВОСТЬ К ИОНИЗИРУЮЩИМ ИЗЛУЧЕНИЯМ.

13.1. Виды излучения.

Развитие ядерной энергетики сопровождается увеличением количества радиоактивных отходов, с которыми нужно непрерывно бороться, как и с другими опасными загрязнителями.

Излучение с очень высокой энергией, способное отнимать электроны от атомов и присоединять их к другим атомам с образованием пар положительных и отрицательных ионов, называют ионизирующим излучением. Источником ионизирующего излучения служат радиоактивные вещества. Те изотопы элементов, которые испускают ионизирующее излучение, называют радиоактивными изотопами.

Радиоактивные вещества способны испускать альфа-, бета- и гамма-лучи. Радиоактивные вещества, испускающие гамма-лучи, относят к «внешним излучателям», так как это проникающее излучение, которое может оказывать действие, когда его источник находится вне организма. К гамма-лучам близко и рентгеновское излучение.

Альфа- и бета-излучения состоят из потока атомных и субатомных частиц, которые передают свою энергетику всему, с чем сталкиваются. Биологи нередко называют эти частицы «внутренними излучателями», так как они обладают большим эффектом, оказавшись внутри или вблизи живой ткани. Каждый радиоактивный изотоп характеризуется определенной атомной массой и распадается с определенной скоростью. Эту скорость называют периодом полураспада. Период полураспада — величина постоянная для данного изотопа, она не зависит от факторов внешней среды. Крайне «короткоживущие» радионуклиды не оказывают никакого влияния на живые системы в отличие от «долгоживущих» радионуклидов.

Проникающая сила излучения зависит от его энергии. Чем выше энергия, тем больше потенциальный ущерб для биологического материала. С точки зрения отрицательного действия на живые системы наиболее опасными считаются изотопы таких элементов, как ^{60}Co, ^{131}I, ^{90}Sr, ^{210}Pb, ^{238}U и др., периоды полураспада которых довольно длительные — от 8 дней у йода до 28 лет у стронция.

Ионизирующее излучение, испускаемое природными веществами, содержащимися в воде, почве, образуют так называемое фоновое излучение, к которому адаптированы живые организмы.

13.2. Действие радиации на растения.

В разных частях биосферы естественный фон различается в 3—4 раза. Но развитие ядерной энергетики во всем мире, различные испытания ядерного оружия, катастрофы, связанные с излучением, привели и продолжают приводить к искусственной радиоактивности, которая добавляется к фону и приводит к непредсказуемым по силе воздействия на все живое на Земле последствиям.

Разные виды организмов сильно различаются по своей чувствительности к дозам облучения. Размеры повреждающего действия облучения на растения зависят от дозы и характера облучения. Наибольший вред причиняет внутреннее облучение растений, когда радиоактивные альфа- и бета-частицы поступают в него через корни и листья. При этом радиоактивные вещества действуют на отдельные молекулы, макромолекулы, субклеточные структуры, клетки, ткани, органы и целый растительный организм, вызывая нарушения физиологических и биохимических процессов.

В зависимости от дозы облучения процессы, обусловливающие синтез важных составных частей клеток, замедляются или прекращаются.

Один из ведущих радиобиологов А. М. Кузин (1956) считает, что в лучевом поражении клеток большую роль играют образующиеся при радиационном воздействии токсичные продукты окисления биосубстратов и ненасыщенных жирных кислот (радиотоксины). Образующиеся при облучении водорастворимые, а также липоидные радиотоксины взаимодействуют с генетическими структурами и мембранами и, таким образом, играют важную роль в развитии лучевого поражения клетки.

Радиотоксины способны активно реагировать с ДНК и действовать на внутренние мембраны клеток, вызывая мутагенные эффекты. При воздействии на мембраны митохондрий возникают нарушения в окислительно-восстановительных процессах, сопряженных с реакциями окислительного фосфорилирования.

Предполагается, что липоидные радиотоксины действуют в основном на мембраны, а хиноидные радиотоксины реагируют с ДНК ядра, вызывая нарушение в ней информации.

У высших растений чувствительность к ионизирующему облучению прямо пропорциональна размеру ядра, а точнее, объему хромосом или содержанию ДНК. Растения с большим объемом хромосом гибнут при дозе в 5—10 раз ниже, чем растения с мелкими хромосомами или малым их количеством. Установлено, что растения с малым числом хромосом и крупными ядрами более чувствительны к облучению, чем полиплоиды и растения с большим числом хромосом и мелкими ядрами. Такая зависимость свидетельствует о том, что при увеличении хромосомной «мишени» вероятность прямого попадания атомных «выстрелов» повышается.

Первичное действие излучения на генетический материал приводит к разрыву хромосом, в результате чего образуются фрагменты, а затем и перекомбинации, вызывающие появление хромосомных перестроек. Более сильное воздействие радиации приводит к прекращению митозов и сильному повреждению ядер.

13.3. Устойчивость растений к действию радиации.

Радиочувствительность растительного организма изменяется в широком интервале доз облучения и зависит от его биологических особенностей, возраста, физиологического состояния, интенсивности обмена веществ. Чувствительность клеток при облучении зависит от температуры, парциального давления кислорода, цикла деления, метаболического состояния, оводненности и интенсивности митозов.

В пределах одного вида растений радиочувствительность может зависеть от изменения объема ядер в течение цикла развития растительного организма. На реакцию растений сильно влияет характер облучения. Повреждения растений при остром облучении обычно наступают при»меньших дозах, чем при хроническом облучении. При хроническом облучении важное значение имеет общая доза, накопленная за митотический цикл, на продолжительность которого, в свою очередь, влияет температура окружающей среды. При более высокой температуре клетки делятся быстрее, а при пониженной — медленнее. В зависимости от температуры изменяются длительность митотического цикла и общая доза хронического облучения.

Действие излучения на растения зависит также от фазы развития растения. У зерновых, например, в результате облучения во время кущения сильно поражаются генеративные органы. Образовавшиеся колосья в значительной степени оказываются стерильными, а зерно — щуплым. При повреждении репродуктивных органов и высокой стерильности колосьев отмечается сильное кущение и у большинства таких растений стебли не образуются, угнетается рост корневой системы. При облучении растений в течение всего вегетационного периода генеративные органы вообще не образуются. Такие же изменения обнаружены и у двудольных растений (горох, фасоль, бобы и др.).

С возрастом у растений повышается устойчивость к радиационному повреждению. При облучении растений пшеницы в период всходов урожай снижается на 53 %, кущения — на 23 %, а во время созревания снижения не обнаруживается. При облучении

картофеля перед бутонизацией клубни не образуются, а при облучении в период цветения урожай снижается на 32 %.

Семена наиболее устойчивы, чем целые растения. Наблюдается довольно тесная связь между радиочувствительностью сухих семян при остром облучении, объемом ядер клеток и числом хромосом при условии одинакового содержания в них воды.

При облучении семян различных культур оказалось, что наиболее чувствительны к облучению семена крестоцветных, а более устойчивы семена овса, люпина, клевера, льна. Ионизирующее излучение радиоактивных изотопов может не оказать повреждающего действия на урожай материнского растения. Однако отрицательное влияние накопленных радионуклидов в семенах может проявиться на последующих поколениях. Обобщая изложенное, можно сказать, что ионизирующая радиация прежде всего действует на генетический аппарат клеток растений. При этом у растений наблюдаются сильнейшие мутации, отмечаются интенсивный рост биомассы, несоразмерное увеличение плодов и другие явления. Но особенно опасно, когда радионуклиды накапливаются в плодах и семенах растений. Помимо этого облучение приводит к сильнейшему загрязнению почвы, которую нельзя использовать под сельскохозяйственные культуры довольно длительное время. Поддержание стабильности генетического аппарата в клетках растений — главное условие для выживания и адаптации их к радиационному облучению.

Вопросы для самоконтроля

1. Виды излучения.
2. Действие радиации на растения.
3. Устойчивость растений к действию радиации.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

а) основная литература (библиотека СГАУ)

1. **Кошкин, Е. И.** Физиология устойчивости сельскохозяйственных культур : учебник / Е. И. Кошкин. - М. : Дрофа, 2010. - 638 с. : ил. - (Учебники и учеб. пособия для студентов высш. учеб. заведений). - ISBN 978-5-358-07798-0

2. Физиология и биохимия сельскохозяйственных растений : учебник / Н. Н. Третьяков [и др.]; ред. Н. Н. Третьяков. - М.: КолосС, 2005. - 656 с. : ил. - (Учебники и учеб. пособия для студентов высш. учеб. заведений). - ISBN 5-9532-0185-0

б) дополнительная литература

1. Биохимия: учебник / В. Г. Щербаков, В. Г. Лобанов, Т. Н. Прудникова. - 3-е изд., испр. и доп. - СПб. : ГИОРД, 2009. - 472 с. : ил. - ISBN 5-98879-008-9

2. Козьмина, Н. П. Зерноведение с основами биохимии растений : научное издание / Н. П. Козьмина, В. А. Гунькин, Г. М. Суслянок. - М. : Колос, 2006. - 464 с.: ил. - (Теоретические основы прогрессивных технологий: биотехнология). - ISBN 5-10-0039.

3. Основы биохимии: практикум / ФГОУ ВПО СГАУ, Факультет защиты растений и агроэкологии ; сост. С. В. Душехватов. - Саратов: ФГОУ ВПО "Саратовский ГАУ", 2009. - 80 с.

4. Физиология растений с основами экологии: учебное пособие / И. В. Сергеева, А. И. Перетятко. - Саратов: ФГБОУ ВПО "Саратовский ГАУ", 2011. - 344 с.: ил. - ISBN 978-5-7011-0740-1

Лекция 14.

ДЕЙСТВИЕ ПЕСТИЦИДОВ НА РАСТЕНИЯ

14.1. Формы пестицидов.

К биотическим факторам, действующим в ценозе и оказывающим влияние на рост, развитие и конечную урожайность растений, наряду с аллелопатическими воздействиями относятся вредители и болезни.

Кроме агротехнических приемов, снижающих вредное действие этих факторов, необходимо применение химических мер борьбы. Химические вещества (органические и неорганические соединения), используемые для борьбы с вредными организмами, повреждающими растения, а также с сорняками, называют пестицидами. Основой применения различных пестицидов является разная чувствительность к ним объектов, обусловленная различной степенью проницаемости поверхности покровов и особенностями обмена веществ. Таким образом, способность пестицидов действовать на одни живые организмы без нанесения вреда другим позволяет широко применять их для защиты растений.

Различного рода пестициды для борьбы с сорняками, называемые гербицидами, чаще всего одинаково фитонцидны как для сорняков, так и для защищаемой культуры, поэтому их применение основано на разной чувствительности к гербицидам в разные фазы развития. Так, гербициды вносят в почву до посева, во время посева или до всходов основной культуры, когда она еще не подвергается их действию. В случае применения гербицидов на вегетирующих растениях возможность сохранения основной культуры также основана на некоторых особенностях метаболизма культурных растений, способных к детоксикации поступающих ядов, или их инактивации.

14.2. Устойчивость растений к пестицидам.

В основе устойчивости разных видов и сортов растений лежат их биохимические реакции обмена веществ и различия в физиологической реакции. Среди растений нет ни одной систематической группы (класс, семейство, род), в которой все представители были бы одинаково устойчивы. Даже в пределах вида отдельные сорта растений по отношению к пестицидам могут вести себя по-разному. Так, двойные межлинейные гибриды кукурузы значительно более устойчивы к гербициду 2,4-Д, чем простые гибриды или: самоопыленные линии. Обнаружены различия в химической реакции на обработку гербицидами у картофеля, гороха, льна, люпина, сахарной свеклы, табака, плодовых и ягодных культур. В целом пестициды проявляют большую избирательность действия по отношению к защищаемым растениям, что и позволяет применять их для борьбы с вредными организмами.

14.3. Механизмы проникновения и поглощения пестицидов растениями.

Пестицид может легко проникать в растения через корни, особенно при проведении предпосевной обработки семян или если он был внесен в почву. Пестициды проникают в корни, несмотря на слабую растворимость в воде, так как они легко растворяются в липидах мембран.

Поглощение пестицидов происходит, очевидно, так же, как и поглощение питательных веществ, в результате диффузии, обменной адсорбции и активного переноса молекул и ионов. Этот процесс может носить пассивный характер, когда адсорбированные на поверхности корней ионы и молекулы пестицидов проникают в неизмененном виде в свободное пространство клеток и дальше продвигаются с током воды по проводящим

сосудам в клетки тканей надземных органов. Одновременно пестициды могут поступать и метаболическим путем, когда, адсорбированные на внешней поверхности цитоплазмы клеток корней, они сразу вовлекаются в интенсивный обмен. В результате биохимической реакции пестициды могут необратимо разрушаться или образовывать комплексы с компонентами клеток. Интенсивность поступления пестицидов через корни повышается с увеличением дозы.

При обработке вегетирующих растений пестициды проникают главным образом через листья (кутикулярно или устьично) в виде жидкости или паров. Проникновение через кутикулу во многом зависит от анатомо-морфологических особенностей покровных тканей. Кутикула покрывает всю поверхность листа в виде сплошной пленки и служит главным препятствием на пути проникновения пестицидов в лист. Она характеризуется отрицательным зарядом и способна поглощать воду, ее матрикс имеет липофильные вещества, через него и могут проникать липофильные пестициды. Эндосперм кутикулы — один из возможных путей проникновения гидрофильных соединений.

Проникновение пестицидов в листья после их кристаллизации прекращается. Известны как полярный (водный), неполярный (липоидный) пути поступления этих веществ в протопласт листа, так и комбинированный.

Проникновение пестицидов через кутикулу определяется их растворимостью в воде или отдельных компонентах кутикулы клеточной оболочки и зависит от степени их полярности.

Кутикула хорошо проницаема для масел, поэтому многие растворимые в масле препараты легко проникают через нее. Далее пестициды диффузным путем проникают через клеточную оболочку и адсорбируются плазмалеммой. Благодаря особым свойствам мембран и вследствие десорбции или пиноцетоза адсорбированные молекулы пестицидов десорбируются в цитоплазму. Это метаболический процесс, в котором источником необходимой энергии являются дыхание и фотосинтез.

Пестициды проникают в листья и через открытые устьица, так как последние способны легко пропускать пары пестицидов из растворов, которыми опрыскивают растения, а также водные и масляные растворы и эмульсии с низким поверхностным натяжением. Поступление препарата возможно также непосредственно через кору и покровные ткани стебля.

Пестициды, поглощенные растениями, могут передвигаться в нем по флоэме, лучевой паренхиме, клеточным стенкам, по ксилеме с транспирационным током и по межклетникам. Пестициды перемещаются в основном в быстрорастущие части растения. Скорость распространения их различна. Довольно быстро передвигается по сосудистой системе гексахлоран, многие гербициды и некоторые фунгициды. Скорость передвижения препаратов совпадает со скоростью движения эндогенных вешеств по флоэме и ксилеме.

14.4. Метаболизм пестицидов в растениях.

Пестициды под действием ферментных систем подвергаются метаболическим изменениям. Скорость метаболических превращений зависит от свойств препарата и возрастных особенностей культуры. В молодых растениях этот процесс идет быстрее, чем в старых, что объясняется высокой физиологической активностью первых.

В молодых тканях в связи с усиленной метаболической деятельностью преобладают синтетические процессы. При этом повышается содержание биокатализаторов и веществ высокой физиологической активности (ферментов, гормонов, витаминов).

Активная форма этих соединений взаимодействует с пестицидами, вызывая их изменения. В старых тканях преобладают гидролитические процессы, связанные с разложением органических и образованием низкомолекулярных соединений, вследствие чего не создаются благоприятные условия для интоксикации пестицидов. Различные

пестициды метаболизируются в растениях по-разному. Одно и то же вещество может вовлекаться в различные реакции, в результате чего образуется множество разнообразных продуктов метаболизма. На первом этапе могут образоваться даже более токсичные соединения, чем исходные.

Пестициды в растениях способны образовывать и липофильные конъюгаты с различными соединениями. Так, достаточно стабильные конъюгаты с углеводами растений обнаружены для большинства пестицидов или их метаболитов, в том числе для синтетических перметроидов (перметрин, циперметрин), триазинов, производных мочевины, карбаминовой кислоты, ароматических карбоновых кислот. Пестициды образуют конъюгаты также с аминокислотами. В большинстве случаев конъюгаты с сахарами и аминокислотами менее токсичны, чем исходные химические соединения. Однако известны и обратные случаи. Конъюгаты многих пестицидов и их метаболиты менее подвижны и могут сохраняться в растениях длительное время, иногда до полного созревания урожая. Применение таких препаратов должно быть строго регламентировано, чтобы в растениях оставалось возможно меньшее их количество. Предпочтительны пестициды, которые быстро разлагаются с образованием нетоксичных соединений. На поверхности растений разложение пестицидов, как правило, происходит быстрее, чем на почве.

Для санитарного контроля за остатками в пищевых продуктах утверждается ПДК — предельно допустимая концентрация содержания остатков пестицидов. ПДК устанавливается на основании результатов опытов по изучению токсичности пестицидов на животных и определения их остатков в той или иной культуре.

Вопросы для самоконтроля

1. Формы пестицидов.
2. Устойчивость растений к пестицидам.
3. Механизмы проникновения и поглощения пестицидов растениями.
4. Метаболизм пестицидов в растениях.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

а) основная литература (библиотека СГАУ)

1. **Кошкин, Е. И.** Физиология устойчивости сельскохозяйственных культур : учебник / Е. И. Кошкин. - М. : Дрофа, 2010. - 638 с. : ил. - (Учебники и учеб. пособия для студентов высш. учеб. заведений). - ISBN 978-5-358-07798-0

2. Физиология и биохимия сельскохозяйственных растений : учебник / Н. Н. Третьяков [и др.]; ред. Н. Н. Третьяков. - М.: КолосС, 2005. - 656 с. : ил. - (Учебники и учеб. пособия для студентов высш. учеб. заведений). - ISBN 5-9532-0185-0

б) дополнительная литература

1. Биохимия: учебник / В. Г. Щербаков, В. Г. Лобанов, Т. Н. Прудникова. - 3-е изд., испр. и доп. - СПб. : ГИОРД, 2009. - 472 с. : ил. - ISBN 5-98879-008-9

2. Козьмина, Н. П. Зерноведение с основами биохимии растений : научное издание / Н. П. Козьмина, В. А. Гунькин, Г. М. Суслянок. - М. : Колос, 2006. - 464 с.: ил. - (Теоретические основы прогрессивных технологий: биотехнология). - ISBN 5-10-0039.

3. Основы биохимии: практикум / ФГОУ ВПО СГАУ, Факультет защиты растений и агроэкологии ; сост. С. В. Душехватов. - Саратов: ФГОУ ВПО "Саратовский ГАУ", 2009. - 80 с.

4. Физиология растений с основами экологии: учебное пособие / И. В. Сергеева, А. И. Перетятко. - Саратов: ФГБОУ ВПО "Саратовский ГАУ", 2011. - 344 с.: ил. - ISBN 978-5-7011-0740-1

Лекция 15.

УСТОЙЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ К ПАТОГЕННЫМ МИКРООРГАНИЗМАМ

15.1. Формы фитопатогенных микроорганизмов.

Жизнедеятельность растений нередко находится в сложных взаимосвязях с патогенными микроорганизмами и насекомыми. Способность противостоять заболеванию возникла у растений в процессе их длительной эволюции, чем можно объяснить значительно большую устойчивость абсолютного большинства диких предков по сравнению с культурными растениями. Невосприимчивость растения к различного рода заболеваниям называется иммунитетом. Он зависит как от наследственных особенностей вида или сорта растений и избирательных способностей патогена, так и от условий внешней среды. Фитопатогенные микроорганизмы относятся к гетеротрофам и способны жить и размножаться лишь при наличии готового органического вещества.

— Различают истинный, или облигатный, паразитизм, когда паразит целиком и полностью зависит от питающего его растения.

- Факультативный паразитизм, когда микроорганизм может быть сапрофитом или полусапрофитом и питаться за счет мертвого субстрата и лишь в особых случаях переходить на паразитический образ жизни.

Среди болезней сельскохозяйственных культур широкое распространение полумили такие, как увядание или вилт, ржавчина, головня, мучнистая роса и многие другие. Древесные растения подвергаются инфекционному полеганию всходов, обыкновенному и снежному шютте, различным опухолям, фитофторозу, мучнистой росе, корневой гнили и ряду других.

15.2. Механизмы воздействия на растения патогенных организмов.

Паразитарные организмы обладают весьма мощным и динамичным ферментным аппаратом, способным перерабатывать самые разнообразные группы веществ, начиная от целлюлозы, гемицеллюлозы, пектина и лигнина и кончая белками и нуклеиновыми кислотами.

Наряду с ферментами, патогенные микроорганизмы вырабатывают вещества самой разнообразной природы, органические кислоты как неспецифической, так и специфической (фомовую, альтернариевую) природы, токсины белковой природы и физиологически активные вещества — гиббереллины и ауксины. С помощью этого мощного арсенала средств фитопатогенные организмы, проникнув в растение, вызывают нарушения свойственного растению обмена веществ.

Исследователи уже давно установили факт резкого повышения интенсивности дыхания тканей растения-хозяина в ответ на заражение. Патоген затрагивает, следовательно, оксидоредуктазы растений. Своего пика дыхание достигает обычно через несколько дней или недель после поселения болезнетворного начала и может превышать контроль в несколько раз. Предполагается, что эта вспышка дыхания связана с защитной реакцией клеток, инфицированных болезнетворными организмами. В последующем вслед за активизацией обычно наблюдается сильный спад интенсивности дыхания у чувствительных сортов и видов растений.

Возбудитель действует не только на отдельные ферменты хозяина, но и на всю совокупность ферментных систем и структурных компонентов клеток.

Патоген выводит из строя, прежде всего, наиболее жизненно важные центры клеток, их белоксинтезирующую систему, митохондрии, хлоропласта и другие органеллы и структуры, связанные с энергообменом. У восприимчивых к болезням растений происходит нарушение не только мембран отдельных органелл, но и плазмалеммы,

снижение вязкости цитоплазмы и устойчивости ее к коагуляции. Эти деструктивные изменения связаны с действием различного рода токсинов, вырабатываемых патогеном. Системы, связанные с синтезом АТФ, также блокируются.

У зараженных растений снижается интенсивность фотосинтеза, развивается хлороз, уменьшаются площадь листовой пластинки у продолжающих вегетировать растений, сухая масса листа, стебля, корня.

Снижение интенсивности фотосинтеза может быть следствием изменений в ходе как световых, так и темновых реакций. Именно в это время вслед за нарушением энергообмена происходят необратимые изменения структурных белков мембран, процессов транспорта метаболитов, усиливаются потери АТФ за счет ее вымывания. Если растение не справляется с болезнью, то вслед за этим нарушаются жизненно важные ультраструктуры и наступает смерть инфицированной клетки, а нередко и растения в целом.

15.3. Ответные реакции растений на поражение патогенными организмами.

В то же время в клетках иммунных растений происходят сложнейшие преобразования, синтез структурных белков, липидов, нуклеиновых кислот. Обычно увеличивается количество рибосом и митохондрий, резко повышается эффективный энергообмен клетки. Вся эта совокупность защитных реакций устойчивых видов и сортов растений позволяет им успешно справляться с инфекционным началом.

Различные неблагоприятные внешние условия могут ослаблять растения и тем самым способствовать их заболеваниям. В связи с этим важно подчеркнуть значение высокого агротехнического фона и других мероприятий, направленных на ослабление болезнетворного начала.

Вопросы для самоконтроля

1. Формы фитопатогенных микроорганизмов.
2. Механизмы воздействия на растения патогенных организмов.
3. Ответные реакции растений на поражение патогенными организмами.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

а) основная литература (библиотека СГАУ)

1. **Кошкин, Е. И.** Физиология устойчивости сельскохозяйственных культур : учебник / Е. И. Кошкин. - М. : Дрофа, 2010. - 638 с. : ил. - (Учебники и учеб. пособия для студентов высш. учеб. заведений). - ISBN 978-5-358-07798-0

2. Физиология и биохимия сельскохозяйственных растений : учебник / Н. Н. Третьяков [и др.]; ред. Н. Н. Третьяков. - М.: КолосС, 2005. - 656 с. : ил. - (Учебники и учеб. пособия для студентов высш. учеб. заведений). - ISBN 5-9532-0185-0

б) дополнительная литература

1. Биохимия: учебник / В. Г. Щербаков, В. Г. Лобанов, Т. Н. Прудникова. - 3-е изд., испр. и доп. - СПб. : ГИОРД, 2009. - 472 с. : ил. - ISBN 5-98879-008-9

2. Козьмина, Н. П. Зерноведение с основами биохимии растений : научное издание / Н. П. Козьмина, В. А. Гунькин, Г. М. Суслянок. - М. : Колос, 2006. - 464 с.: ил. - (Теоретические основы прогрессивных технологий: биотехнология). - ISBN 5-10-0039.

3. Основы биохимии: практикум / ФГОУ ВПО СГАУ, Факультет защиты растений и агроэкологии ; сост. С. В. Душехватов. - Саратов: ФГОУ ВПО "Саратовский ГАУ", 2009. - 80 с.

4. Физиология растений с основами экологии: учебное пособие / И. В. Сергеева, А. И. Перетятко. - Саратов: ФГБОУ ВПО "Саратовский ГАУ", 2011. - 344 с.: ил. - ISBN 978-5-7011-0740-1

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

СОДЕРЖАНИЕ

Лекция 1. Общие понятия стресса и адаптации…………………………………….. 2
1.1. Неблагоприятные факторы биотической и абиотической природы…………….. 2
1.2. Ответные реакции растений на действие стрессоров. Специфические и неспецифические реакции………………………………………………………… 3
1.3. Природа неспецифических реакций………………………………………… 5
1.4. Стрессовые белки и их функции……………………………………………... 8
Лекция 2. Окислительный стресс……………………………………………… 11
2.1. Активные формы кислорода. Характеристика основных форм кислорода. Биологическое значение активных форм кислорода…………………………….. 11
2.2. Окислительный стресс и запрограммированная смерть клетки…………………. 11
2.3. Устойчивость к активным формам кислорода. Способность снижения образования активных форм кислорода. Механизмы детоксикации АФК………….. 13
Лекция 3. Высокотемпературный стресс. Жароустойчивость……………………….. 16
3.1. Влияние теплового шока на клеточном уровне……………………………... 16
3.2. Влияние высокой температуры на уровне растения и ценоза. Высокотемпературный стресс в фазы вегетативного и генеративного развития. Урожайность и структура урожая в условиях температурного стресса……………... 18
3.3. Молекулярно-генетические аспекты повышения жаростойкости……………… 20
Лекция 4. Холодостойкость растений…………………………………………….. 22
4.1. Действие гипотермии на клеточном уровне………………………………… 22
4.2. Низкотемпературный контроль эксперессии генов…………………………... 23
4.3. Физиологические процессы в условиях пониженных температур……………… 23
4.4. Устойчивость к холодовому стрессу……………………………………………. 25
4.5. Методы диагностики холодового повреждения………………………………….. 25
4.6. Пути повышения холодоустойчивости теплолюбивых культур………………… 26
Лекция 5. Морозоустойчивость растений………………………………………... 28
5.1. Условия и причины вымерзания растений. Повреждение растений при действии морозов. Адаптация растений к действию отрицательных температур….. 28
5.2. Закаливание. Изменения, происходящие в растительном организме в ходе закалки……………………………………………………………………… 30
5.3. Химическая природа биологических антифризов……………………………... 31
5.4. Роль сахаров, липидов и белков в адаптации растений……………………….. 32
5.5. Механизмы повышения морозоустойчивости при закалке…………………… 32
5.6. Возможные пути передачи низкотемпературного сигнала…………………….. 33
5.7. Генетический контроль морозоустойчивости…………………………………….. 35
Лекция 6. Действие дефицита воды и засухоустойчивость………………………... 37
6.1. Эффективность использования воды растениями……………………………... 37
6.2. Понижение водного потенциала растительных клеток как стратегия избежания обезвоживания…………………………………………………………… 37
6.3. Свойства и функции осмолитов…………………………………………… 38
6.4. Белки, образующиеся в клетках растений при дегидратации…………………… 41
6.5. Защитные и регуляторные функции белков, индуцируемых водным дефицитом……………………………………………………………………… 42
Регуляция экспрессии генов, индуцируемых водным дефицитом…………………... 43
Лекция 7. Засухоустойчивость растений…………………………………………… 46
7.1. Понятие о засухоустойчивости растений……………………………………… 46
7.2. Реакции растений на засуху………………………………………………….. 47
7.3. Группы растений, способных переносить засуху………………………………… 48

7.4. Механизмы приспособления растений к засухе…………………………………….. 50
7.5. Повышение устойчивости к засухе…………………………………………………... 56
Лекция 8. Переувлажнение как источник стресса…………………………………….. 59
8.1. Влияние на растения избытка воды в почве……………………………………… 59
8.2. Влияние на растения недостатка или отсутствия кислорода…………………….. 59
8.3. Гипотезы устойчивости к затоплению у растений……………………………….. 62
Лекция 9. Газоустойчивость растений…………………………………………………. 64
9.1. Влияние на растения загрязненности воздуха……………………………………. 64
9.2. Основные формы газо- и дымоустойчивости растений………………………….. 64
9.3. Чувствительность растений к различным вредным газам……………………….. 65
9.4. Механизмы газоустойчивости……………………………………………………... 66
Лекция 10. Устойчивость растений к нарушениям минерального питания………… 70
10.1. Роль основных минеральных элементов в жизни растений……………………. 70
10.2. Влияние избытка минеральных элементов на растение………………………... 71
10.3. Приспособление к избытку минеральных элементов…………………………... 73
10.4. Влияние недостатка минеральных элементов на растение…………………… 74
10.5. Приспособления растений к недостатку минеральных элементов…………… 76
Лекция 11. Солеустойчивость растений……………………………………………….. 80
11.1. Солеустойчивость…………………………………………………………………. 80
11.2. Реакции растений на засоление…………………………………………………. 80
11.3. Особенности приспособления растений к условиям засоления………………. 80
11.4. Пути повышения устойчивости к засолению…………………………………… 82
Лекция 12. Устойчивость растений к тяжёлым металлам……………………………. 84
12.1. Поглощение тяжелых металлов растениями. Содержание ТМ в почвах и растениях……………………………………………………………………………………… 84
12.2. Токсическое действие тяжелых металлов……………………………………….. 84
12.3. Фиторемедиация…………………………………………………………………... 85
Лекция 13. Устойчивость к ионизирующим излучениям…………………………….. 86
13.1. Виды излучения……………………………………………………………………. 86
13.2. Действие радиации на растения…………………………………………………. 87
13.3. Устойчивость растений к действию радиации…………………………………... 87
Лекция 14. Действие пестицидов на растения………………………………………… 89
14.1. Формы пестицидов………………………………………………………………… 89
14.2. Устойчивость растений к пестицидам…………………………………………… 89
14.3. Механизмы проникновения и поглощения пестицидов растениями…………. 89
14.4. Метаболизм пестицидов в растениях……………………………………………. 90
Лекция 15. Устойчивость растений к патогенным микроорганизмам………………. 92
15.1. Формы фитопатогенных микроорганизмов……………………………………... 92
15.2. Механизмы воздействия на растения патогенных организмов………………… 92
15.3. Ответные реакции растений на поражение патогенными организмами……… 93
Библиографический список…………………………………………………………….. 94